Tran Thi Thu-Ha

Berlin 1976

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547617_0034

Zur chemischen Konservierung von Haut mit der Zielstellung ihres Einsatzes als Transplantationsmaterial ("biologischer Verband") im Rahmen der Behandlung ausgedehnter und schwerer Verbrennungen

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr.med.)

Vorgelegt der Medizinischen Fakultät des Wissenschaftlichen Rates der Humboldt-Universität zu Berlin

von

Dipl. Med. Tran thi Thu-Ha
Fachärztin für allgemeine Chirurgie
geb. am 18.1.1940 in Saigon, Vietnam

Dekan: Prof.Dr.sc.med. G. L i e s s

Gutachter: 1. Prof. Hackenseliner
2. Prof. Scharbinski
3. Dr. Dietze

Berlin, den 24.3.76

DANKSAGUNG

Für die Überlassung des Themas, für die kontinuierliche Betreuung und für die Hilfe bei der schriftlichen Abfassung der vorliegenden Dissertation bin ich dem Leiter der Abteilung für Transfusions- und Transplantationswesen des Bereichs Medizin der Humboldt-Universität zu Berlin, Herrn Prof. Dr.sc.med. H.A. HACKENSELLNER zu großem Dank verpflichtet.

Desweiteren haben mir dankenswerter Weise bei der Durchführung der Untersuchungen mit Rat und Tat geholfen: Prof.Dr.sc.med. G. SCHABINSKI, Direktor des Instituts für medizinische und allgemeine Mikrobiologie, Virologie und Epidemiologie der Humboldt-Universität zu Berlin, sowie Frau OA Doz. Dr.med.LANGE und Frau HEINICKE vom gleichen Institut; Herr Obermedizinalrat Dr.med.habil. O.DIETZ, Frau S.RICHTER, Frau R.HERRMANN, Frau J.SCHÄFER und die Krankenschwester B.GERDAR von der Abteilung für Dermatologie des Krankenhauses der Volkspolizei Berlin; Herr Medizinalrat Prof.Dr.sc.med., Dr.rer.nat.W.WEUFFEN, Direktor des Bezirkshygiene-Instituts Rostock in Greifswald und Dipl.med. A.KRAMER, wiss.Assistent an diesem Institut. Dr.med.J.KADEN, Frau R.WELZEL und Frau Ing.R.PUTZKE von der Abteilung Klinische Immunologie des Bereichs Medizin

der Humboldt-Universität zu Berlin; Dr.rer.nat. SEIDLER, Dr.med.K.SEIJKIEWICZ, Dr.rer.nat.GÖTZE, Frau STEINMANN, Frau BAUSDORF, Frau THEWS, Frau PREUSS, Herr METZLER und Herr HENNIG vom Pathologischen Institut des Bereichs Medizin der Humboldt-Universität zu Berlin; Dr.med.G.SCIGALLA vom Bezirksinstitut für Blutspende- und Transfusionswesen Berlin; Frau BERTONE, Frl. LÜCK und Herr KLÄWICKE vom Institut für Arzneimittelwesen der DDR Berlin-Weißensee.

Besonderen Dank schulde ich auch dem Laborleiter Dr.rer.nat. P.KRIETSCH, dem ehemaligen Leitenden Medizinisch-technischen Assistenten J.NÄTHER und allen anderen Mitarbeitern des Laboratoriums für Transplantationswesen der Abteilung für Transfusions- und Transplantationswesen des Bereichs Medizin der Humboldt-Universität zu Berlin. Sie haben mich in die Praxis der Gewebekonservierung eingeführt und den Hauptanteil bei der Absicherung der experimentellen Arbeiten getragen.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
1.	Einleitung	8
1.1.	Eigene Erfahrungen	8
1.1.1.	Konservierung von Haut	8
1.1.1.1.	Vitale (homovitale) Konservierung	8
1.1.1.2.	Avitale (homostatische) Konservierung	8
1.1.1.2.1.	Lagerung in Salzlösung (mit Antibiotikazusatz) bei 4 °C	9
1.1.1.2.2.	Lagerung in synthetischen oder halbsynthetischen Nährmedien (Parker-199) bei 4 °C	9
1.1.1.2.3.	Lagerung in Honig bei 4 °C	9
1.1.2.	Hauttransplantation	9
1.1.2.1.	Autotransplantation	9
1.1.2.1.1.	Als gestielte Transplantation, speziell nach dem Filatowschen Verfahren	10
1.1.2.1.2.	Freie Transplantation	11
1.1.2.2.	Homotransplantation	11
1.1.2.2.1.	Haut von lebenden Spendern	11
1.1.2.2.2.	Haut von Feten	11
1.1.2.3.	Heterotransplantation	12
1.2.	Möglichkeiten der Hautkonservierung	12
1.2.1.	Vitale (homovitale) Konservierung - Biologische Konservierungsverfahren	12
1.2.1.1.	Temperaturherabsetzung auf 4 °C	12
1.2.1.2.	Temperaturherabsetzung auf unter 0 °C (meist auf -196 °C) mit Gefrieren	13

		Seite
1.2.2.	Avitale (homostatische) Konservierung - Chemische und physikalische Konservierungsverfahren	14
1.2.2.1.	Einlegen in Konservierungs- oder Fixierungsflüssigkeiten	14
1.2.2.2.	Temperaturherabsetzung auf -20 °C oder tiefer mit Gefrieren ohne Verwendung von Kryoprotektiva	14
1.2.2.3.	Gefriertrocknung	15
1.2.3.	"Heterostatisch konservierte" Hautersatzmaterialien	15
1.3.	Hautersatz vom Standpunkt der klinischen Anwendung aus, unter besonderer Berücksichtigung der Behandlung von Verbrennungen	15
1.3.1.	Vitaler bzw. homovital konservierter autogener oder allogener Hautersatz	18
1.3.1.1.	Autotransplantation - Transplantation vitaler Eigenhaut	18
1.3.1.2.	Allotransplantation - Transplantation vitaler bzw. vital konservierter und avital (homostatisch) konservierter Spender- oder Leichenhaut	19
1.3.1.3.	Xenotransplantation - Transplantation avital (homostatisch) konservierter Tierhaut	21
1.3.1.4.	Transplantation anderer biologischer Hautersatzmaterialien	22
1.4.	Aufgabenstellung	22
2.	Experimentelle Untersuchungen zur Konservierung von Haut	24

		Seite
2.1.	Material und Methodik	24
2.1.1.	Verwendete Konservierungsmittel	24
2.1.1.1.	Peressigsäure (PES)	24
2.1.1.1.1.	Formel, Gewinnung und chemisch-physikalische Eigenschaften	24
2.1.1.1.2.	Antimikrobielle Wirkung	25
2.1.1.2.	Betapropiolakton (BPL)	26
2.1.1.2.1.	Formel, Gewinnung und chemisch-physikalische Eigenschaften	26
2.1.1.2.2.	Antimikrobielle Wirkung	27
2.1.1.3.	Formaldehyd (FA)	29
2.1.1.3.1.	Formel, Gewinnung und chemisch-physikalische Eigenschaften	29
2.1.1.3.2.	Antimikrobielle Wirkung	30
2.1.1.4.	Cialit (CA)	31
2.1.1.4.1.	Formel, Gewinnung und chemisch-physikalische Eigenschaften	31
2.1.1.4.1.	Antimikrobielle Wirkung	32
2.1.1.5.	Merthiosal (MT)	33
2.1.1.5.1.	Formel, Gewinnung und chemisch-physikalische Eigenschaften	33
2.1.1.5.2.	Antimikrobielle Wirkung	33
2.1.1.6.	Glutaraldehyd (GA)	34
2.1.1.6.1.	Formel, Gewinnung und chemisch-physikalische Eigenschaften	34
2.1.1.6.2.	Antimikrobielle Wirkung	35
2.1.2.	Untersuchungen an Kettenhaut	37
2.1.2.1.	Material	37

		Seite
2.1.2.1.1.	Physikalische, chemische, morphologische und bakteriologische Untersuchungen	37
2.1.2.1.2.	Immunologische Untersuchungen (Transplantationsexperimente)	38
2.1.2.2.	Konservierungsmethoden	38
2.1.2.2.1.	Physikalische, chemische, morphologische und bakteriologische Untersuchungen	38
2.1.2.2.2.	Immunologische Untersuchungen (Transplantationsexperimente)	39
2.1.2.3.	Durchführung und Auswertungen der Versuche	39
2.1.2.3.1.	Physikalische, chemische, morphologische und bakteriologische Untersuchungen	40
2.1.2.3.1.1.	Physikalische Untersuchungen	40
2.1.2.3.1.2.	Chemische Untersuchungen	40
2.1.2.3.1.3.	Morphologische Untersuchungen	45
2.1.2.3.1.4.	Untersuchungen auf Sterilität	47
2.1.2.3.2.	Immunologische Untersuchungen (Transplantationsexperiments)	48
2.1.2.3.2.1.	Versuchsaufbau	
2.1.2.3.2.2.	Durchführung der Versuche	
2.1.2.3.2.3.	Auswertung der Versuche	49
2.1.3.	Untersuchungen an Mäusehaut	50
2.1.3.1.	Material	50
2.1.3.2.	Konservierungsmethoden	50

		Seite
2.1.3.3.	Versuchsaufbau	51
2.1.3.4.	Durchführung der Versuche	52
2.1.3.5.	Auswertung der Versuche	53
2.1.4.	Untersuchungen an menschlicher Haut	54
2.1.4.1.	Material	54
2.1.4.1.1.	Physikalische, chemische und bakteriologische Untersuchungen	54
2.1.4.1.2.	Spezielle Sterilitätsuntersuchungen	54
2.1.4.2.	Konservierungsmethoden	55
2.1.4.2.1.	Physikalische, chemische und bakteriologische Untersuchungen	55
2.1.4.2.2.	Spezielle Sterilitätsuntersuchungen	55
2.2.	Ergebnisse	56
2.2.1.	Untersuchungen an Rattenhaut	56
2.2.2.	Untersuchungen an Mäusehaut	59
2.2.3.	Untersuchungen an menschlicher Haut (Leichenhaut)	61
3.	Experimentelle Untersuchungen zur Behandlung von Verbrennungen durch Transplantation konservierter Haut	63
3.1.	Material und Methodik	63
3.1.1.	Tiermaterial	63
3.1.2.	Setzung standardisierter Verbrennungen	63
3.1.2.1.	Beschreibung der verwendeten Apparatur	63

		Seite
3.1.2.2.	Setzung der Verbrennungen	64
3.1.3.	Transplantationsmaterial	64
3.1.4.	Transplantation	64
3.1.5.	Haltung der Tiere und Auswertung der Befunde	65
3.1.5.1.	Haltung der Tiere	65
3.1.5.2.	Auswertung der Befunde	65
3.2.	Ergebnisse	66
4.	Klinische Untersuchungen	69
4.1.	Material und Methodik	69
4.1.1.	Gewinnung des Transplantationsmaterials	69
4.1.2.	Konservierung des Transplantationsmaterials	69
4.1.3.	Transplantation	70
4.1.4.	Auswertung	71
4.2.	Ergebnisse	71
5.	Diskussion und Schlußfolgerungen	73
5.1.	Chemische Konservierung und physikalische, chemische und morphologische Eigenschaften der Haut	73
5.2.	Chemische Konservierung und Immunogenität der Haut	76
5.2.1.	Lymphknotenreaktion	76
5.2.2.	Lymphozytotoxische Antikörper	78
5.2.3.	Second-set-Reaktion	80

		Seite
5.3.	Chemische Konservierung und Sterilität der Haut	82
5.4.	Verbrennungen und Transplantation chemisch konservierter Haut	85
5.5.	Ulcera cruris und Transplantation chemisch konservierter Haut	88
5.6.	Schlußfolgerungen	89
6.	Zusammenfassung	92
7.	Literaturverzeichnis	96
8.	Tabellen	
9.	Abbildungen	

1. E I N L E I T U N G

1.1. EIGENE ERFAHRUNGEN

1.1.1. K o n s e r v i e r u n g v o n H a u t

Die Bedingungen für die Konservierung von Haut sind zur Zeit in der Demokratischen Republik Vietnam noch sehr ungünstig. Es fehlt vielfach an technischn Einrichtungen (es gibt nicht ausreichend Kühlschränke; Tiefkühlschränke bzw. -truhen und Gefriertrocknungsanlagen stehen kaum zur Verfügung) sowie an Chemikalien. Anderseits sind jedoch im Gefolge der amerikanischen Aggression in großer Zahl Hautverletzungen (mechanische und thermische) zu behandeln. Folgende einfache Konservierungsverfahren kommen derzeit in der Demokratischen Republik Vietnam zur Anwendung:

1.1.1.1. Vitale (homovitale) Konservierung

Gewinnung von Frischhaut (meist von Angehörigen des prospektiven Empfängers, selten von Leichen, dann innerhalb von 3 Stunden nach dem Tod) - Kurzzeitlagerung in physiologischer Kochsalzlösung (0,9 % NaCl) + Antibiotikazusatz im Kühlschrank (4 °C). Wirksamkeit: Tage.

1.1.1.2. Avitale (homostatische) Konservierungsverfahren

1.1.1.2.1. Lagerung in Kochsalzlösung (mit Antibiotikazusatz) bei 4 °C

Dieses Verfahren wird zur Konservierung von Leichenhaut (vor allem Haut von Feten!) sowie zur Konservierung heterologer Haut (speziell Rückenhaut von Fröschen, seltener Schweine- und Hühnerhaut) herangezogen. Wirksamkeit: Wochen (Monate?).

1.1.1.2.2. Lagerung in synthetischen oder halbsynthetischen Nährmedien (Parker-199) bei 4 °C

Das Verfahren wird noch erprobt. Wirksamkeit: Wochen (Monate?).

1.1.1.2.3. Lagerung in Honig bei 4 °C

Dieses Verfahren wird auch zur klinischen Anwendung eingesetzt. Wirksamkeit: 2 Monate.

1.1.2. H a u t t r a n s p l a n t a t i o n

In der Demokratischen Republik Vietnam werden in großer Zahl Hauttransplantationen durchgeführt. Die Hauttransplantation ist aber mit zahlreichen Problemen behaftet (Asepsis, Infektionsgefahr, Gewinnung von Transplantationsmaterial, Gewebekonservierung).

1.1.2.1. Autotransplantation

Die autologe Transplantation von Haut erbringt (erwartungsgemäß) sehr gute Resultate. Unter den Bedingungen

der amerikanischen Aggression ist sie allerdings mit einer Reihe von Problemen belastet. Dazu gehört die relativ hohe Infektionsgefahr und die sehr aufwendige stationäre Behandlung (lange Liegezeit!). Aus diesen Gründen werden autologe Hautplastiken derzeit nur in beschränktem Umfange durchgeführt, und zwar nach folgenden Methoden:

1.1.2.1.1. als gestielte Transplantation
speziell nach dem Filatowschen Verfahren

Dabei wird ein Hautstreifen samt subkutanem Fettgewebe durch zwei parallele Einschnitte, deren Länge der halben Distanz zwischen ihnen entsprechen soll, isoliert und von der Unterlage abpräpariert, so daß die Haut zwischen den Enden der parallelen Einschnitte als Verbindung (Stiele) fungiert. Der Hautstreifen wird nun (Epidermis nach außen) in sich zu einer Rolle vernäht und die darunter liegende Wunde (Entnahmebett) durch Nähte verschlossen.
Nach etwa 2 bis 3 Wochen wird ein Ende abgetragen und (meist) am Rücken einer Hand implantiert. Sobald eine ausreichende Ernährung über diesen neuen Stiel gesichert ist (gewöhnlich nach weiteren 2 bis 3 Wochen), wird der noch am Entnahmeort verbliebene Stiel abgetrennt, der zu einer Rolle vernähte Hautlappen in der Längsrichtung aufgeschnitten und in das definitive Transplantationsbett eingebracht (die Hand bzw. der Arm, mit dem das Transplantat über den im zweiten Operationsschritt gebildeten Stiel in Verbindung steht, muß entsprechend fixiert werden).

Das Verfahren kann als abgeschlossen gelten, wenn nach weiteren 4 bis 5 Wochen der letzte Stiel abgetrennt wird.

1.1.2.1.2. Freie Transplantation

Dazu werden Spalthautlappen von weniger als 3 mm Dicke verwendet.

1.1.2.2. Homotransplantation

Zur homologen Transplantation wird Haut von lebenden Spendern und von Feten (Brephoplastik) verwendet. Die Gewinnung von Leichenhaut stößt auf Schwierigkeiten. Die Transplantation wird durch Antibiotikamedikation und zum Teil auch von Immunosuppressiva-Gaben (Kortison, Imuran, Aktinomyzin C u.a.) unterstützt.

1.1.2.2.1. Haut von lebenden Spendern

Die Haut - von Verwandten (Geschwister, Mutter) gespendet - wird in physiologische Kochsalzlösung eingelegt und unmittelbar darauf oder auch erst nach Tagen bis (mitunter) Wochen transplantiert. Die Transplantation erfolgt in der Regel 3 bis 6 Wochen nach der Verbrennung, wenn sich die Verbrennungswunde gereinigt hat. Die Haut wirkt wie ein biologischer Verband, sie wird nach 7 bis 13 Tagen abgestoßen.

1.1.2.2.2. Haut von Feten

Die Transplantation fetaler menschlicher Haut spielt derzeit in der Demokratischen Republik Vietnam eine wichtige Rolle. Fetale Haut wird besser als die Haut von Erwachsenen

vertragen. Sie wird im allgemeinen erst nach 15 Tagen abgestoßen. Nicht selten wird sie sogar über mehrere Wochen und Monate vertragen.

1.1.2.3. Heterotransplantation

Dazu wird vor allem die Rückenhaut von Fröschen, gelegentlich auch die Haut von Schweinen und Hühnern, verwendet. Die "Sterilisation" der Haut erfolgt durch Einlegen in einen Antibiotikacocktail. Bei ausgedehnten Verbrennungswunden wird die Wundfläche oft alternierend mit homologen oder autologen Transplantaten belegt (Briefmarkentechnik). Die heterologe Haut wird im allgemeinen nach 7 bis 10 Tagen abgestoßen. Abgestoßene Präparate werden durch neue Transplantate ersetzt.

1.2. MÖGLICHKEITEN DER HAUTKONSERVIERUNG

Bei der Darstellung der Möglichkeiten folgen wir im wesentlichen der Einteilung von Hackensellner (1967).

1.2.1. V i t a l e (homovitale) K o n s e r v i e r u n g - B i o l o g i s c h e K o n s e r v i e r u n g s v e r f a h r e n

1.2.1.1. Temperaturherabsetzung auf 4 °C

Die Temperaturherabsetzung auf 4 °C erfolgt bei Einlegen der Haut in Salzlösungen, wie z.B. physiologische Kochsalzlösung, Ringer-, Tyrode-, Hanks- oder Earle-Lösung (Allgöwer u. Mitarb. 1952; Andina 1970; Behounkova 1971;

Broiskij 1969; Carrell 192; Lehr u.Mitarb. 1964; Sinko 1975; Zoltán 1962), in Salzlösungen mit Serum bzw. synthetische oder halbsynthetische Nährmedien wie Eagle-Basalmedium, Eagle MEM, Parker-199 usw. (Bochan 1958; Gresham u. Mitarb. 1963; Lehr u. Mitarb. 1964) oder schließlich in rein biologische Medien, wie z.B. Honig (Khoi 1971).

Wirkungsweise: Mit der Temperatursenkung ist eine wesentliche Herabsetzung des Stoffwechsels verbunden. Salzlösungen sichern (mehr oder weniger) das Elektrolytgleichgewicht zwischen Konservat und Milieu. Bei der Verwendung von Nährmedien oder anderen rein biologischen Medien kommt dazu ein für die Aufrechterhaltung des Stoffwechsels über längere Zeit wichtiges Substratangebot. Für die Wirkung von Honig spielt neben dem Substratangebot (Zucker und Aminosäuren) möglicherweise auch das Vorhandensein antibiotisch (antibakteriell) wirkender Substanzen (bzw. Substanzgemische) und Vitamine eine entscheidende Rolle.

Wirksamkeit: Stunden bis Tage.

1.2.1.2. Temperaturherabsetzung auf unter 0 °C (meist auf -196 °C) mit Gefrieren

An einschlägigen Veröffentlichungen seien erwähnt: Abbott u. Pappas (1970), Cochrane u. Mitarb. (1968), Bergsren u. Lehr (1965), Es (1972), Fedotenkow u. Mitarb. (1965), Gresham u. Mitarb. (1963) sowie Lehr u. Mitarb. (1964). Die Haut muß vorher mit einem Kryoprotektivum durchtränkt werden. Das Einfrieren nach Programm bis zur Endtempera-

tur von -80 °C bis meist -196 °C hat dabei langsam zu erfolgen, das Auftauen dagegen schnell.

Wirkungsweise: reversibler Stoffwechselstopp!

Wirksamkeit: Jahre!

1.2.2. A v i t a l e (homöostatische) K o n s e r v i e r u n g - C h e m i s c h e u n d p h y s i k a l i s c h e K o n s e r v i e r u n g s v e r f a h r e n

1.2.2.1. Einlegen in Konservierungs- oder Fixierungsflüssigkeiten

Alkohol, Formaldehyd, Cialit, Merthiosal u.a. (Bornemisza 1965; Hackensellner 1973; Hackensellner u. Tau-ha 1975; Im u. Simmons 1972; Justasié u. Prpié 1967; Richter u. Falkoska 1969; Santiago u. Mitarb. 1972; Silverstein u. Mitarb. 1971).

Wirkungsweise: Unterdrückung autofermentativer Vorgänge durch Enzymvergiftung und Eiweißdenaturierung.

Wirksamkeit: Wochen bis Monate.

1.2.2.2. Temperaturherabsetzung auf -20 °C oder tiefer mit Gefrieren ohne Verwendung von Kryoprotektiva

Lagerungstemperatur -20 °C oder tiefer

Wirkungsweise: Unterdrückung der autofermentativen Prozesse.

Wirksamkeit: Monate.

1.2.2.3. Gefriertrocknung

Über Hautkonservierung durch Gefriertrocknung haben berichtet: Abbot u. Pappas (1970), Andina (1970), Budrass (1965), Gresham u. Mitarb. (1963), Hackensellner (1973), Kiene u. Mitarb. (1973 und 1975).

Wirkungsweise: Stopp der autofermentativen Vorgänge durch Entzug des Funktionswassers und Sauerstoffmangel.

Wirksamkeit: Jahre.

1.2.3. "Heterostatisch konservierte" Hautersatzmaterialien

Hierher gehören: Fibrinschaum, Fibrinfolien und Kollagenfolien (Brodskij 1967; Köhnlein 1965). Diese Materialien werden im allgemeinen industriell hergestellt, wie z.B. Collagen-Implant-Braun der Firma Braun-Melsungen, BRD.

1.3. HAUTERSATZ VON STANDPUNKT DER KLINISCHEN ANWENDUNG AUS, UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER BEHANDLUNG VON VERBRENNUNGEN

Hauttransplantationen wurden schon um 3500 v.d.Z. von ägyptischen Ärzten ausgeführt (Eberspapirus 1500 v.d.Z., nach Köhnlein 1965). Im 16. Jahrhundert hat Tagliacozzi überlieferte Verfahren der gestielten Transplantation von Hautlappen aufgegriffen und in die Klinik eingeführt (Koltán 1962; Köhnlein 1965). Die Anwendung der freien

Transplantation von Eigenhaut begann wesentlich später und zwar erst in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts; sie ist mit den Namen Reverdin (1869), Ollier (1872), Thiersch (1874), Wolfe (1875), Krause (1893) u.a. verbunden. Das Jahr 1911 kann als Geburtsjahr der Fremdhauttransplantation angesehen werden. Lexer hat gezeigt, daß Fremdhaut beim Menschen primär anheilt. Der grundsätzliche Unterschied zwischen Eigenhaut, Fremdhaut und Haut tierischen Ursprungs wurde zu dieser Zeit noch nicht entsprechend berücksichtigt.

Baronio bewahrte 1804 Hautstücke bei Zimmertemperatur für kurze Zeit (nähere Angaben stehen uns nicht zur Verfügung) auf und verwendete sie dann zur Autotransplantation (nach Zoltán 1962); man kann ihn daher als Begründer der Hautkonservierung ansehen. Carrell beschrieb 1912 mit der erfolgreichen Aufbewahrung von Haut in Ringerlösung bei 4 °C bis 7 °C für 10 Tage als erster eine auch heute noch aktuelle Konservierungsmethode. Nach dem 2. Weltkrieg haben viele Autoren, wie Abbott (1970, Berggren (1965), Gresham u. Mitarb. (1971), Klen (1971), Köhnlein (1965), Lehr (1964), Medawar (1955), Odonoghue u. Harvey (1971), Palchin (1963), Parks (1957), Rofenow (1975), Seiffert (1958), Schmidt (1970), Sykow (1975), Su (1972), Webster (1944) u.a., über experimentelle Untersuchungen und praktische Erfahrungen in der Hauthonservierung berichtet.

Bei der Behandlung ausgedehnter Verbrennungen müssen sofort zu treffende Maßnahmen, Maßnahmen im Frühstadium

einer Verbrennung nach Überwindung des Schockzustandes und rekonstruktive Maßnahmen im Spätstadium der Verbrennungskrankheit bzw. zur Wiederherstellung durch Narbenbildungen eingeschränkter Funktionen unterschieden werden. In der ersten Phase steht die Schockbekämpfung im Vordergrund, in der dritten die Transplantation körpereigener Spalt- oder Vollhaut.

Die nach der Schockphase für das Leben des Patienten entscheidende Phase war lange Zeit (und ist es grundsätzlich auch heute noch) eine Domäne der konservativen Therapie (Allgöwer 1967, Müller 1970, Schoenenberger u. Städler 1974, Zellner u. Mitarb. 1975, Zellner 1970, u.a.).

Vereinzelt wurde auch früher schon die Transplantation vitaler oder avitaler Eigen- oder Fremdhaut in Frühstadium in die Behandlung von Hautverbrennungen einbezogen (nach Köhnlein 1965 von Branca 1442, Tagliacozzi 1597, Krasnvinkel 1682, sowie von Sansassoni 1731).

Seit etwa 25 Jahren spielt die primäre Deckung von Verbrennungswunden bzw. Nekrektomiewunden mit konservierter allogener oder auch xenogener Haut eine zunehmende Rolle. Als Konservierungsverfahren werden vor allem die Tiefkühllagerung und die Gefriertrocknung, seltener auch das Einlegen in wäßrige Lösungen chemischer Substanzen herangezogen. Seit über 10 Jahren wird auch die Transplantation durch Tieftemperaturkonservierung vital konservierter Haut immer häufiger zur Verbrennungsbehandlung eingesetzt

(Andina 1970, Berger 1975, Köhnlein 1962, Smith 1955, Es 1972, Weber-Göttingen 1969).

Dieses Vorgehen ist allerdings an einen großen technischen Aufwand gebunden und durch die immunologische Problematik der Übertragung von Fremdhaut belastet. Nach Frank (zit. bei Zoltán) unterscheidet man bei der Transplantationsbehandlung von Verbrennungen primäre und sekundäre Eingriffe, und unter ersteren, die uns hier interessieren, Transplantationen nach primärer, verzögerter und beschleunigter Nekrektomie (s. Tabelle I). Die Vorteile der Transplantation als primärer Eingriff - gleich, ob dazu, wenn Eigenhaut nicht ausreichend zur Verfügung steht, allogene oder xenogene Haut herangezogen wird - sind vielfältiger Natur; wir haben sie in Anlehnung an Tabelle II zusammengestellt.

1.3.1. Vitaler bzw. homovital konservierter autogener oder allogener Hautersatz

1.3.1.1. Autotransplantation - Transplantation vitaler Eigenhaut

Die Transplantation von Eigenhaut ist bei allen Verbrennungen 3. Grades indiziert, wenn nach primärer Nekrektomie bzw. spontaner oder durch gezielte ärztliche Maßnahmen geförderter Abstoßung der Nekrosen ein sauberes Transplantationsbett vorliegt (Schmidt u. Gay 1972, Anderl 1974, Dietz 1973, u.a.).

Von besonderer Bedeutung ist sie natürlich bei ausgedehn-

ten Verbrennungen, die mehr als 25 % der Körperoberfläche betreffen. Je größer die von der thermischen Schädigung betroffene Gesamtfläche, desto schwieriger ist es allerdings, Eigenhaut in ausreichendem Maße zu gewinnen. Auch der dann hochgradig herabgesetzte Allgemeinzustand kann den Arzt zwingen, von einer Eigenhautgewinnung Abstand zu nehmen (Berger 1975, Köhnlein 1965, Seiffert 1963).

Der entscheidende Vorteil der Transplantation von Eigenhaut liegt darin, daß diese in der Regel "angeht" und daß damit auf eine Zweittransplantation in späteren Stadien der Verbrennungsbehandlung verzichtet werden kann. Mißerfolge sind nur dann zu erwarten, wenn das Transplantat durch eine Infektion zerstört wird oder im Gefolge einer Blut- oder Exsudatansammlung ohne Anschluß an das Wundbett bleibt und daher wegen mangelnder Ernährung abstirbt.

1.3.1.2. Allotransplantation - Transplantation vitaler bzw. vital konservierter und avital (homostatisch) konservierter Spender- oder Leichenhaut

Bei der frühen Allotransplantation im Rahmen der Verbrennungsbehandlung muß man grundsätzlich zwischen der Transplantation avital (homostatisch) konservierter Leichenhaut und der Transplantation von Haut lebender Spender und frisch Verstorbener bzw. vital konservierter Leichenhaut unterscheiden. Die Transplantation vitaler Haut verlangt in jedem Fall die Berücksichtigung aller für die Organtrans-

plantation wesentlichen Gesichtspunkts, wobei allerdings davon ausgegangen werden kann, daß bei schweren Verbrennungen die Immunabwehr völlig darniederliegt, so daß eine temporäre Transplantationstoleranz besteht und die Haut "angeht". In der Literatur finden sich zwei grundsätzlich verschiedene Strategien, sowohl hinsichtlich der Applikationsweise, speziell der Dauer, als auch hinsichtlich der Spenderauswahl. So gibt es Autoren, die einen Wechsel der Transplantate alle 7 bis 9 Tage empfehlen (Erdélyi 1969, Schmitt 1957, Abbott u. Pappas 1970), und andere, die eine möglichst lange Erhaltung der primär typischerweise in den Organismus integrierten allogenen Haut anstreben, um schließlich nach Wiederaufleben der Immunreaktionen seitens des Empfängers und Abstoßung diese durch Eigenhaut zu ersetzen (Seiffert 1970, u.a.). Was die Spenderauswahl betrifft, findet sich die Ansicht, daß es am besten wäre, die Haut von möglichst vielen Spendern zu verwenden, während andere (die meisten Autoren) meinen, daß man immunologische Komplikationen am besten durch möglichst strenge Spender-/Empfänger-Auswahl und durch Heranziehung möglichst nur eines kompatiblen Spenders vermeide. Anhänger der zuletzt genannten Strategie werden, wenn die entsprechenden Voraussetzungen gegeben werden, Haut von geeigneten Verwandten der vitalen Leichen- bzw. Konservenhaut vorziehen.

Avital (homostatisch) konservierte Leichenhaut kann im Gegensatz zur vitalen Haut nach der Transplantation selbst-

verständlich nur eine passive, die Wunde abdeckende (Wasser-, Elektrolyt-, Eiweiß- und Energieverlust!) und schützende (Infektion!) Rolle spielen; ihr Einsatz ist daher mit vollem Recht als "biologischer Wundverband" zu charakterisieren. Unabhängig von der Konservierungsmethode ist zwar ein vorübergehender Anschluß des Gefäßsystems des Transplantates an die Gefäße des Wundbettes möglich, aber die übertragene tote Haut verfällt alsbald der Auflösung. Tot konservierte Haut ist daher auf jeden Fall in Zeitabständen von wenigen (3 bis 5) Tagen so lange auszutauschen, bis die nicht reepithelisierte Restfläche durch Eigenhaut gedeckt werden kann (Braun u. Mitarb. 1966, Richter u. Palkoska 1969, Seiffert 1968, u.a.).

1.3.1.3. Xenotransplantation - Transplantation avital (homostatisch) konservierter Tierhaut

Unter den Bedingungen einer ausgedehnten Verbrennung und der damit verbundenen Immunosuppression kann die Anwendung konservierter Tierhaut (z.B. entsprechend präparierter Schweinehaut) ähnlich gute Dienste leisten, wie die Abdeckung der Brand- bzw. Nekrektomiewunde mit avital konservierter menschlicher Haut, das heißt, auch xenogene Haut ist als effektiver "biologischer Verband" einsetzbar. Dabei ist zu beobachten, daß die xenogenen Transplantate, genau so wie die avitalen allogenen, in kurzen Zeitabständen (alle paar Tage) ausgetauscht werden müssen (Kiene 1973 und 1975, Köhnlein 1965, Stengel 1968, Simko 1975, u.a.).

1.3.1.4. Transplantation anderer biologischer Ersatzmaterialien

In erster Linie wurde unter den anderen Hautersatzmaterialien allogenes oder auch xenogenes Amnion (besser: Chorioamnion) zur Behandlung frischer Verbrennungen herangezogen (Babik 1975, Hackenseliner 1967, Klen 1971, Kührlein 1965). Weitere flächige Gewebe, wie Faszie, Dura, Bauch- oder Brusthöhlenserosa können gleiche Dienste leisten.

Experimentell und im Versuch wurden auch verschiedene von allogenen oder xenogenen Gewebebestandteilen bzw. Geweben abstammende Präparationen als biologischer Verband bei Verbrennungen getestet oder selbst angewandt. Dazu gehören Folien aus menschlichem oder tierischem Fibrin sowie Folien aus resynthetisiertem tierischen Kollagen. Besonders die sogenannten Dreischichtkollagenfolien der Firma Braun-Melsungen haben eine Zeit lang von sich reden gemacht. Diese Präparate konnten sich aber nicht allgemein durchsetzen.

1.4. AUFGABENSTELLUNG

Ausgehend von der Tatsache, daß mit Einschränkung Katastrophen, vor allem aber militärische Auseinandersetzungen mit einem hohen Anfall thermisch Geschädigter, aber auch Toter verbunden sind, haben wir uns die Aufgabe gestellt zu untersuchen, inwieweit es möglich ist, Leichenhaut

unmittelbar im Katastrophengebiet selbst zu gewinnen und für Tage bis Wochen zu konservieren. Konservierung und Lagerung sollten dabei ohne besonderen apparativ-technischen Aufwand möglich sein und den spezifischen Verhältnissen, die z. B. die Möglichkeit einer aseptischen Hautabnahme einschränken, Rechnung tragen. Mit dieser Zielstellung kam nur eine chemische Konservierung in Frage, wobei das konservierende Agens gleichzeitig in ausreichendem Maße keimwidrig wirken mußte. Konkret untersuchten wir:

1. den Einfluß von Peressigsäure, Betapropiolakton, Formaldehyd, Cialit, Merthiosal und Glutaraldehyd auf tierische (Ratte, Maus) und menschliche Haut;

2. den Effekt der Transplantation so konservierter Haut bei experimentellen Verbrennungen 3.Grades (Maus);

3. den Einfluß chemisch konservierter menschlicher Haut auf die Heilung von Ulcera cruris.

2. EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR KONSERVIERUNG VON HAUT

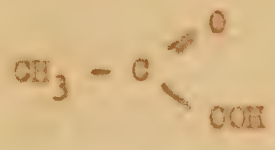
2.1. MATERIAL UND METHODIK

2.1.1. Verwendete Konservierungsmittel

2.1.1.1. Peressigsäure (PES)

2.1.1.1.1. Formel, Gewinnung und chemisch-physikalische Eigenschaften

PES oder Azetpersäure bzw. Azetylwasserstoffperoxid ist die wichtigste Perkarbonsäure. Sie unterscheidet sich von der Essigsäure durch das Vorliegen der typischen Peroxidgruppierung. Ihre Strukturformel kann folgendermaßen geschrieben werden:



PES ist eine farblose, intensiv stechend riechende Flüssigkeit. Ihr Siedepunkt liegt zwischen 105 °C und 110 °C, ihr Schmelzpunkt bei etwa -8 °C. PES ist löslich im Wasser, Alkohol, Äther und Schwefelsäure. Beim Erhitzen auf 100 °C bis 110 °C explodiert sie heftig. Auch hoch konzentrierte PES ist gefährlich. Lösungen mit weniger als 40 % PES sind

nicht explosibel. Gehandelt wird PES in der DDR als 40%ige Lösung unter der Bezeichnung Wofasteril. Dieses Handelspräparat enthält neben PES und Wasser auch Essigsäure und Wasserstoffperoxid. Letztere entstehen beim spontanen Zerfall der PES nach folgenden Reaktionsketten:

a. $2CH_3 - C(=O)(OOH) \longrightarrow 2CH_3 - C(=O)(OH) + O_2$

b. $CH_3 - C(=O)(OOH) + H_2O \longrightarrow CH_3 - C(=O)(OH) + H_2O_2$

Wofasteril ist bei 5 bis 15 °C 6 Monate lang haltbar und gefriert bis zu einer Temperatur von -30 °C nicht. Stärker verdünnte Lösungen sind bei Zimmertemperatur über 1 Woche, bei Kühlschranktemperatur (4 °C) über 1 Monat lagerfähig. In der zur Desinfektion gebräuchlichen 0,2%igen Verdünnung liegt der pH-Wert bei 2,7.

2.1.1.1.2. Antimikrobielle Wirkung

Nach Domnick (1969) wurde PES 1951 von Greenspan u. Mitarb. als bakterizid und fungizid wirkende Verbindung erkannt. 1960 veröffentlichten Kline u. Hull ihre Beobachtungen über die virusidе Wirkung der PES.
Bakterien und Sporenbildner werden von einer 0,2%igen PES-

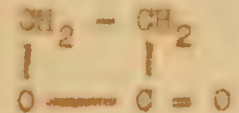
Lösung in 2 min abgetötet (Sprößig u. Mitarb. 1967). Sporen in 0,3- bis 0,5%iger PES vernichtet (Tichaček 1972). Im akuten Toxizitätstest liegt die LD_{50} für weiße Ratten bei 210 mg/kg (Tichaček 1972).

PES wird in der Medizin zur Oberflächendesinfektion von Instrumenten und zur Händedesinfektion benutzt. Zur Desinfektion von menschlicher und tierischer Haut werden 0,01- bis 0,5%ige PES-Lösungen verwendet (Tichaček 1972). Für die hygienische Händedesinfektion wird 0,2- bis 0,5%ige PES bei einer Einwirkungszeit von 2 bis 5 min, für die chirurgische Händedesinfektion 0,5%ige PES und eine Wirkungszeit von 5 min und schließlich zur Sterilisation chirurgischer Instrumente oder Apparate eine mindestens 0,5%ige PES-Lösung mit einer Einwirkungszeit von 30 min empfohlen (Lücke u. Sprößig 1969, Tichaček 1972).

2.1.1.2. Betapropiolakton (BPL)

2.1.1.2.1. Formel, Gewinnung und chemisch-physikalische Eigenschaften

BPL oder Betahydroxypropionsäurelakton bzw. Propanolid(3,1), ein innerer Ester der Betahydroxypropionsäure, ist seit 1885 bekannt. Es wurde 1915 von Johanson synthetisiert. BPL hat die Strukturformel:



BFL ist eine farblose, leicht süßlich riechende Flüssigkeit, mit einem spezifischen Gewicht von 1,1490. Ihr Siedepunkt liegt bei 155 °C, ihr Schmelzpunkt bei -33,4 °C. BFL wird durch Kondensation von Ketten mit Formaldehyd in Gegenwart von Zinkchlorid, Aluminiumchlorid oder Bortrifluorid synthetisiert. Es ist sehr reaktionsfähig. In wäßrigen Lösungen ist BFL unbeständig und hydrolysiert schnell. In konzentrierter Form bleibt es bei 4 °C einige Jahre unverändert, bei höheren Temperaturen polymerisiert es jedoch in wenigen Wochen. Die Polymerisation des flüssigen BFL wird durch anorganische Salze, Säuren und Basen katalysiert. Für biologische Zwecke wird ein speziell gereinigtes BFL mit einer Konzentration von 99 % gehandelt.

2.1.1.2.2. Antimikrobielle Wirkung

Nach Künzel (1973) wurde BFL von Hartmann und LoGrippo 1957 erstmals als Sterilisationsmittel empfohlen.
BFL hat sowohl in wäßriger Lösung als auch in Gasphase eine hohe bakterizide, sporozide und viruzide Wirksamkeit. Verallgemeinernd läßt sich feststellen, daß 0,2%ige wäßrige Lösungen vegetative Bakterien und Viren bei 37 °C innerhalb von 1 h abtöten bzw. inaktivieren (Bernheim u. Gale, 1952, Kelly u. Mitarb. 1954, Sutherland u. Mitarb. 1958, Hussmann 1960, Bashinow u. Kamorskij 1961, Horn u. Künzel 1965, Künzel u. Mitarb. 1969, Künzel 1973, Koch u. Schabinski, 1974, Kewitsch u. Frankova 1974).

Die Prüfung der akuten Toxizität ergab nach Kelly u. Mitarb. (1957) bei i.v.-Applikation für Mäuse, Kaninchen, Meerschweinchen und Hunden LD_{50}-Werte zwischen 90 mg/kg bis 345 mg/kg Körpergewicht. Im Vordergrund stehen Gewichtsverlust sowie Nierentubuli- und Leberzellnekrosen. BPL wirkt bei länger dauernder Einwirkung bzw. bei höheren Konzentrationen in der Gasphase schleimhautreizend und führt zu Tränenfluß. Konzentrationen über 0,1 mg/l Luft können nicht länger als 5 min toleriert werden (Künzel 1973).

BPL kann zur Sterilisation von Blutplasma und Nährböden verwendet werden. So haben Kelly und Mitarb. (1954) 767 Einheiten Plasma bei 241 Patienten und Wolfram u. LoGrippo (1964) 2563 Einheiten Plasma bei 995 Patienten transfundiert, ohne eine posttransfusionelle Hepatitis oder toxische, allergische bzw. sonstige Erscheinungen zu beobachten.

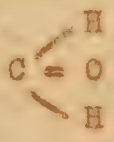
Zur Sterilisation von Transplantaten haben Trafas u. Mitarb. (1954) erste Untersuchungen bei Tieren durchgeführt (nach Künzel 1968). Viele Autoren, wie LoGrippo u. Mitarb. (1955), Hartmann u. LoGrippo (1957), Sutherland u. Mitarb. (1958), Mjelnikowa u. Mitarb. (1964), Saweljew u. Mitarb. (1965) und andere (s.Künzel 1973), haben dann BPL zur Sterilisation von Blutgefäßen, Knochen, Dura mater und weiteren Geweben benutzt. Bei Verwendung einer 1%igen Lösung gilt bei einer Reaktionstemperatur von 37 °C eine Inkubationszeit von 2 h als ausreichend (Sachinow u. Mitarb. 1961). BPL ist wegen seiner relativen Ungefährlichkeit,

seiner guten Diffusibilität und seiner hohen Bakterizidie und Viruzidie das meist verwendete Mittel zur chemischen "Sterilisation" von Gewebekonserven (Hackenseliner 1973). Da es stark sauer ist, empfiehlt es sich, die Gebrauchslösung durch Verdünnung mit Phosphatpuffer (pH 7,4 bis 7,5) herzustellen (Kjelnikowa u. Mitarb. 1964).

2.1.1.3. Formaldehyd (FA)

2.1.1.3.1. Formel, Gewinnung und chemisch-physikalische Eigenschaften

FA, Ameisensäurealdehyd, Formylhydrat, Methanal, Methylaldehyd hat folgende Strukturformel:



FA wurde erstmals 1859 von Butlerow dargestellt. Bei der Synthese des FA geht man von Methanol oder Methan aus. Das Methanol wird entweder an metallischen Katalysatoren, wie Platin oder Silber, mit einem Luftunterschuß (65 Vol.%) oder an Metalloxidkontakten mit einem Luftüberschuß (93 Vol.%) partiell oxydiert. Von Methan ausgehend gewinnt man FA durch Oxydation in Luft bei Normaldruck und 600 °C in Gegenwart katalytischer Mengen Stickstoffdioxids oder durch Oxydation in ozonhaltigem Sauerstoff in Gegenwart von mit Silberoxid aktiviertem Bariumperoxid bei 110 bis 120 °C. Bedeutende Mengen FA entstehen auch bei der Oxydation anderer niedrigmolekularer Alkane, besonders des Propans und der Butane.

Im Labor wird FA hauptsächlich durch Erhitzen von Paraformaldehyd dargestellt.
FA ist ein farbloses, stechend riechendes Gas, das bei Temperaturen über 500 °C fast vollständig in Kohlenoxid und Wasserstoff zerfällt. Bei -21 °C ist FA als 35- bis 40%ige wäßrige Lösung im Handel. Es neigt auch in gelöster Form zu Polymerisation und Additionsreaktionen.

2.1.1.3.2. Antimikrobielle Wirkung

Nach Hemann (1972) wurde erstmals 1868 von Loew auf die bakterizide Wirkung von FA hingewiesen.

FA ist ein Desinfektionsmittel mit breitem Wirkungsspektrum, es vernichtet grampositive und gramnegative Bakterien, Pilze und die meisten Viren. Bei längeren Einwirkungszeiten (1 bis 2 h) und höheren Konzentrationen (mindestens 5%ig) werden auch Bazillensporen abgetötet.

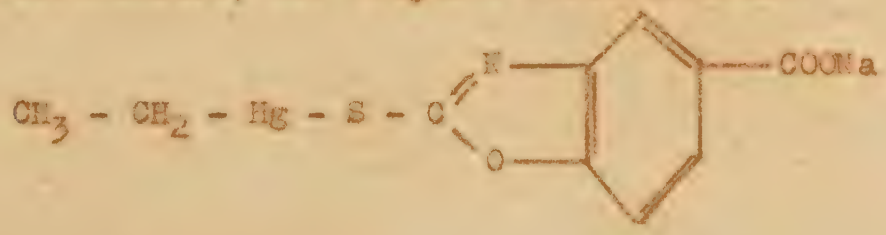
FA ist nicht ungefährlich. Es führt in 1- bis 2%iger Konzentration bei versehentlicher oraler Einnahme zu schweren Nekrosen der oberen Verdauungswege und oftmals noch nach Stunden zu Magenperforation und Exitus (Hemann 1972).
FA verbindet sich als sehr reaktionsfähiger Körper mit Eiweißstoffen aller Art.
FA wird zur Raumdesinfektion und zur Oberflächenentkeimung (Instrumente) verwendet. Es dient auch zur Abtötung krankheitserregender Bakterien bei der Herstellung von Impfstoffen.
FA wurde nach Richter u. Palkoska (2969) schon 1908/09 von

Lewin und Largin zur Konservierung von Geweben für Transplantationszwecke benutzt. Es steht selbst heute noch gelegentlich zu diesem Zwecke in Verwendung (Richter und Palkoska 1969). Besonders hervorgehoben seien Arbeiten, in denen über den Einsatz von FA bei der Konservierung von Haut berichtet wird: Braun u. Mitarb. (1966), Richter u. Palkoska (1969), Fejgelman u. Mitarb. (1972), Silverstein u. Mitarb. (1971).

2.1.1.4. Cialit (CA)

2.1.1.4.1. Formel, Gewinnung und chemisch-physikalische Eigenschaften

CA, chemisch Natriumsalz der 2-(Äthylmerkurithio)-benzoxazol-5-karbonsäure, hat folgende Strukturformel:



CA ist ein fast weißes Pulver, das beim Erhitzen ohne zu schmelzen verkohlt. Es ist in Wasser und Methanol leicht, in Äthanol schwerer, im Diäthyläther und Azeton nicht löslich. Im Handel wird CA in Röhrchen zu 1 g und in Fläschchen zu 10 g und zu 50 g angeboten. Zur Herstellung wäßriger Lösungen wird empfohlen, 2,5 g Substanz mit 100 ml auf 80 bis 90 °C zu erhitzen und mit destilliertem Wasser zu übergießen; die Lösung soll sofort nach dem Abkühlen gebracht werden (Schmidt u. Mitarb. 1968).

2.1.1.4.1. Antimikrobielle Wirkung

Zur Desinfektion wurde CA erstmals von Butzengeiger und Münster (1936) benutzt (zit. nach Müller 1950).

CA besitzt eine starke bakterizide und fungizide Wirkung. Staphylococcus aureus, Salmonella typhi und Mycobacterium tuberculosis werden von CA 0,01%ig nach einer Einwirkungszeit von 5 min, Staphylokokken von einer CA-Lösung gleicher Konzentration nach 15 min getötet.

Die Dosis tol. max. für Kaninchen, die Dosis, bei der noch keine Kreislauf- oder Atemstörungen auftreten, liegt bei 10 mg/kg Körpergewicht (i.v. oder s.c.); dabei kann gelegentlich eine geringe Eiweißausscheidung zu verzeichnen sein. Bei i.v.-Applikation von 5 mg/kg ist auch eine Nierenschädigung nicht mehr festzustellen.

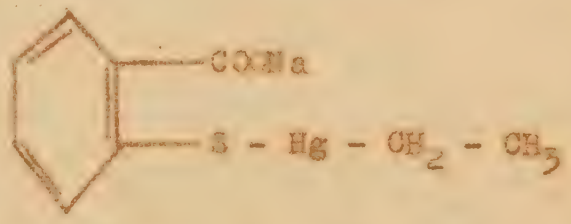
CA wird zur Konservierung von Impfstoffen und Seren (Endkonzentration 0,01 % oder 0,02 %) und zur Hautdesinfektion (0,01%ig bis 0,1%ig) verwendet.

Zur Gewebekonservierung wird CA seit langem eingesetzt, wobei anfangs vor allem Knochen (Hauberg und Bruckschen 1954, Sieber 1955, Lerch 1957), später auch anderes Transplantatmaterial, wie Blutgefäße (Schmitt 1957), Sehnen (Herzog 1965, Seiffert 1967) und weitere Gewebe in CA-Lösung (0,02%ig bis 0,1%ig) eingelegt wurden.
1968 haben Seiffert und Mitarbeiter über Experimente zur Konservierung von Haut in 0,02%iger CA-Lösung berichtet.

2.1.1.5. Merthiosal (MT)

2.1.1.5.1. Formel, Gewinnung und chemisch-physikalische Eigenschaften

MT, Natriumsalz der o-(Äthylmerkurithio)-benzoesäure (andere Synonyma: Äthylmerkurithiosalizylsäure, Thimerosal, Merthiolat, Merfamin, Rosemack) hat folgende Strukturformel:



MT ist ein cremefarbenes, kristallines Pulver mit schwachem Geruch, das in Wasser und Äthylalkohol leicht löslich ist. Bei 20 °C löst sich 1 Teil MT in 1 Teil Wasser oder 8 Teilen Äthylalkohol. In Diäthyläther oder Benzol ist es fast unlöslich. MT muß vor Licht geschützt aufbewahrt werden. Im Handel wird MT als Thimerosal, ca 97%ig, in Fläschchen zu 200 g angeboten.

2.1.1.5.2. Antimikrobielle Wirkung

MT wirkt auf grampositive und gramnegative Kokken und Stäbchen sowie auf Pilze bakterio-(fungi-)statisch bis bakterio-(fungi-)zid. Nach Birkhaug (1953) werden Bacillus subtilis-Keime in einer 0,024%igen MT-Lösung bei 37 °C nach einer Einwirkungszeit von 15 min abgetötet (zit. Erichleb u. Mitarb. 1972). Eine hohe Effektivität gegenüber Staphylococcus aureus haemolyticus

vor allem aber gegenüber B.coli, B.paratyphi B, B. pyocyaneum und B. prodigiosum (0,4 % bis 0,0004 %) konnten Sprößig und Stephan (1934) nachweisen. Das Virus der Schweinepest wird nach Goldmann (zit. Merka 1972) in 0,02%iger Lösung innerhalb 120 min inaktiviert.

MT ist in den Verdünnungen, die praktisch zur Anwendung kommen, nicht toxisch (Schmidt und Mitarb. 1968).

In der Medizin wird MT in 0,1- bis 0,01%iger Lösung zur Oberflächen- bzw. Händedesinfektion und als Hautantiseptikum (Sprößig u. Mitarb. 1954; Brichleb u. Mitarb. 1972) und in 0,02- bis 0,01%iger Lösung zur Konservierung von Impfstoffen und Seren (Rohm 1951, Sprößig u. Mitarb. 1954, Wallhäußer u. Mitarb. 1967) verwendet.

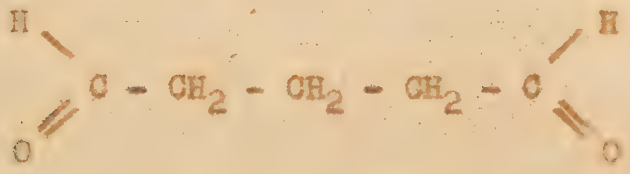
Mortensen u. Mitarb. (1954) haben MT in 0,1%iger Lösung zur Entkeimung im Rahmen der Konservierung von Blutgefäßen eingesetzt. Als eigentliches Konservierungsmittel wurde MT bereits 1951 von Reynolds u. Mitarb. verwendet ("Merthiolat-Knochenbank"). Zur Hautkonservierung wurde es von Juzbašić und Prpić (1967) herangezogen.

2.1.1.6. Glutaraldehyd (GA)

2.1.1.6.1. Formel, Gewinnung und chemisch-physikalische Eigenschaften

GA oder Pentandial ist ein Dialdehyd der Glutar-(Pentan-

dialure. Er hat folgende Strukturformel:



Zur Gewinnung wird Akrolein und Vinylmethyläther 2 h lang auf 130 °C erhitzt und die dabei entstehende Additionsverbindung mit Wasser verseift.

GA ist eine nicht brennbare ölige Flüssigkeit mit einem Siedepunkt von 187 bis 189 °C (bei 760 Torr). Er ist sehr reaktionsfähig. Mit Wasser und Alkohol ist er in jedem Verhältnis mischbar. GA, der in verdünnter Lösung als Korrosionsschutzmittel verwendet wird, ist als 25%ige wäßrige Lösung im Handel. Wäßrige Lösungen sind schwach sauer. In der zur Desinfektion gebräuchlichen 2%igen Verdünnung (2.1.1.6.2.) hat GA einen nicht unangenehmen Geruch. Der pH-Wert der Gebrauchsverdünnung liegt bei 3,1. In dieser Form ist GA selbst bei Raumtemperatur über 2 Jahre haltbar.

2.1.1.6.2. Antimikrobielle Wirkung

Die ersten Mitteilungen über die antimikrobielle Wirkung von GA erschienen 1963 (Stonehill und Mitarb.; Pepper und Chandler) und 1964 (Borik und Mitarb.).

Neuere Veröffentlichungen zu den bioziden Leistungen

von GA stammen von Rubbo und Mitarb. (1967), Mücke und Mitarb. (1972) u.a.

GA entfaltet seine volle biozide Wirkung erst nach Alkalisierung. Die Aktivierung erfolgt z.B. durch Zusatz von 0,3 % Natriumbikarbonat zur 2%igen wäßrigen GA-Gebrauchslösung, wodurch der pH-wert auf 8,0 bis 9,0 ansteigt (Mücke und Mitarb., 1972).

Die alkalisierte Gebrauchslösung ist allerdings bei Zimmertemperatur nur über 2 Wochen in verwendungsfähigem Zustand haltbar, innerhalb von 4 Wochen verliert sie unter diesen Lagerungsbedingungen 50 % ihrer Aktivität (Mücke und Mitarb. 1972). Die aktivierte 2%ige wäßrige GA-lösung tötet alle grampositiven und gramnegativen Bakterien in einer Einwirkungszeit von weniger als 1 min (Borik und Mitarb. 1964). Mücke und Mitarb.(1972) konnten bei den von ihnen verwendeten Testkeimen (Staphylococcus aureus haemolyticus DG 511; E.coli; Pseudomonas aeruginosa; Proteus vulgaris; Bacillus mesentericus; Bacillus subtilis; Erdsporen) Bakterizidie nach einer Einwirkungszeit von 30 s, Sporozidie (gegenüber Kultursporen) nach 15 min und Abtötung von Erdsporen innerhalb von 8 h feststellen. GA wirkt nach Borik und Mitarb. (1964) fungizid (notwendige Exposition 30 s) und viruzid (bei einer Einwirkungszeit von maximal 10 min). Hervorgehoben wird auch die gute Hautverträglichkeit und die geringe Toxität von GA.

GA ist für menschliche und tierische Haut nur gering toxisch. Die LD_{50} für Ratten liegt bei oraler Anwendung bei 352 mg/kg Körpergewicht (Jorik und Mitarb. 1964).

GA wurde bald nach der Entdeckung seiner antimikrobiellen Wirksamkeit zur Kaltsterilisation von urologischem und anästhesiologischem Instrumentarium eingesetzt (Rittenburg und Mitarb. 1965, O'Brien und Mitarb. 1966). Dazu wird eine 1- bis 2%ige Lösung benutzt (Rittenburg und Mitarb. 1965, O'Brien und Mitarb. 1966, Schmidt und Mitarb. 1968).

Das Mittel wird seit einiger Zeit auch zur Gewebekonservierung, speziell auch zur Hautkonservierung bzw. zur Antigenitätsbeeinflussung bei Haut verwendet (Im und Simmons 1972, Santiago-Delpin 1972).

2.1.2. Untersuchungen an Rattenhaut

2.1.2.1. Material

2.1.2.1.1. Physikalische, chemische, morphologische und bakteriologische Untersuchungen

Diese Untersuchungen wurden an Proben von 250 bis 300 g schweren männlichen Ratten (Stamm Wister-Rehbrücke) durchgeführt. Als Proben dienten die in Abbildung 1a und 1c dargestellten Hautstanzen, die aus der

Bauchhaut der durch Genickschlag getöteten Tiere mit den in Abbildung 2 wiedergegebenen Geräten gewonnen worden waren.

2.1.2.1.2. Immunologische Untersuchungen (Transplantationsexperimente)

Als Empfänger dienten 60 Ratten vom BDIX-Stamm (AgB). Als Spender 20 Ratten vom Stamm Wistar-Kehlbrücke. Die Tiere waren durchgehend männlichen Geschlechts und wogen zwischen 250 und 300 g. Aus der Bauchhaut der durch Genickschlag getöteten Wistarratten wurden Stanzproben nach Abbildung 1a zunächst konserviert (siehe 2.1.2.2.2.) und später autokutan implantiert (siehe 2.1.1.3.2.) bzw. solche nach 1b vital transplantiert (siehe 2.1.2.3.).

2.1.2.2. Konservierungsmethoden

2.1.2.2.1. Physikalische, chemische, morphologische und bakteriologische Untersuchungen

Die nach 2.1.2.1.1. gewonnenen Vollhautstanzen wurden in Reagenzgläser eingebracht, die jeweils eine definierte Menge der folgenden Lösungen bzw. Verdünnungen in Phosphatpuffer nach Sörensen enthielten (s. dazu Tab. III).

Tabelle III

Peressigsäure	0,10%ig (PES)	pH 7,4
Betapropiolakton	1,00%ig (BPL-1,0%)	pH 7,4
Betapropiolakton	0,01%ig (BPL-0,01%)	pH 7,4
Formaldehyd	4,00%ig (FA)	pH 7,4
Cialit	0,02%ig (CA)	pH 7,4
Merthiosal	0,10%ig (MT)	pH 7,4
Glutardialdehyd	2,00%ig (GA)	pH 8,5 - 9

Die Proben wurden bei Zimmertemperatur (20 bis 22 °C) über einen Zeitraum bis zu 3 Monaten gehalten.

2.1.2.2.2. Immunologische Untersuchungen (Transplantationsexperimente)

Die Konservierung der nach Abbildung 1a hergestellten Proben erfolgte nach 2.1.2.2.1. und zwar einheitlich über 3 Wochen. Es wurden mit Ausnahme von BPL-1,0%, das sich als ungeeignet erwies, dieselben Verfahren wie dort angegeben, eingesetzt. Darüber hinaus wurden Proben über eine gleich lange Zeit durch Tieftemperaturlagerung bei -20 °C (TTL) bzw. durch Gefriertrocknung (GT) konserviert - diese beiden Versuchsgruppen sollten neben anderen Kontrollen (s. 2.1.2.3.2.1.) Bezugswerte für die Beurteilung der Untersuchungsergebnisse liefern.

2.1.2.3. Durchführung und Auswertungen der Versuche

2.1.2.3.1. Physikalische, chemische, morphologische und bakteriologische Untersuchungen

Die Auswertung erfolgte nach 1, 3, 7, 14, 21 und 90 Tagen mittels physikalischen, chemischen und morphologischen Methoden, nach 90 Tagen bakteriologisch auf Sterilität. Eine Übersicht über den Versuchsaufbau gibt Tabelle III.

2.1.2.3.1.1. Physikalische Untersuchungen

Geprüft wurde die Zerreißfestigkeit und die maximale Dehnbarkeit (bis zum Zerreißen). Form und Abmessungen der Proben sind aus Abbildung 1c zu entnehmen. Die Untersuchung erfolgt im Institut für Arzneimittelwesen (IFAR) Berlin-Weißensee, zuerst (PES 1. bis einschließlich 14.Versuchstag) am Reißfestigkeitsprüfer nach DIN 53834 der Spezialmaschinenfabrik Karl-Marx-Stadt (eingestellter Wirkungsbereich 0 ..... 2000 g), später (PES ab 21. Versuchstag sowie alle anderen Versuche) am Reißfestigkeitsprüfer FPT 40 des VEB Thüringer Industriewerk Ravenstein (gewählter Prüfbereich 0 ..... 4000 g). Als Einspannlänge der Proben wurden 15 mm gewählt, als Belastungsgeschwindigkeit 300 mm/min.

2.1.2.3.1.2. Chemische Untersuchungen

Chemisch wurde der Eiweißaustritt in die Konservierungsflüssigkeit geprüft. Die quantitative Bestimmung erfolgte im allgemeinen mittels der Methode von Folin-Ciocalteu. Nur bei der Untersuchung von Merthiosal-Material mußte

die Eiweißbestimmung mittels Biuret-Methode, modifiziert nach Weichselbaum, durchgeführt werden, da das Folinreagens in Gegenwart von Merthiosal bereits in Kontrollen ohne Haut (Mediumkontrolle = Leerwertkontrolle) reagiert; wegen der geringeren Empfindlichkeit der Biuret-Methode waren in die 3 ml Konservierungsflüssigkeit enthaltenden Reagenzgläser 3 (statt 1) Probekörper eingebracht worden (s. Tabelle III).
Die kolorimetrische Messung erfolgte am Spekol (VEB Carl Zeiss Jena).

A) Methode nach Folin-Ciocalteu

a) Reagenzien

Reagens 1: 2 % Na_2CO_3 wasserfrei in 0,1 n-NaOH (Lösung A); 0,5 % $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ in 1%igem Kalium-Natrium-Tartrat ($KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$) mit n-NaOH auf pH 7,0 einstellen (Lösung B); vor Gebrauch Lösung A und Lösung B im Verhältnis 50 : 1 mischen; die Lösungen A und B sind bei Zimmertemperatur 2 - 3 Wochen haltbar.

Reagens 2 (Folinreagens): 100 g Natriumwolframat ($Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$) und 25 g Natriummolybdat ($Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$) werden in 700 ml H_2O gelöst; dazu werden 50 ml 85%ige H_3PO_4 und 100 ml konzentrierte HCl zugesetzt und das Gemisch wird 10 h im Rückflußkühler gekocht; gegen Ende der Kochperiode wird

eine Lösung von 150 g Lithiumsulfat (Li_2SO_4) in 50 ml Aqua dest. mit einigen Tropfen Brom versetzt, zugegeben, nach dem Abkühlen wird auf 1000 ml Aqua dest. aufgefüllt, das fertige Reagens darf keinen grünlichen Schimmer zeigen, es ist, im Kühlschrank aufbewahrt, praktisch unbegrenzt haltbar; vor Verwendung mit Aqua dest. 1 : 1 zu verdünnen.

Eiweißstandardlösung (für Eichkurve): 10 mg Rinderserumalbumin gelöst in 10 ml Aqua bidest.

b) Bestimmung

Sie erfolgt nach folgendem Schema:

Hauptwert	Leerwert
1 ml Probe (Konservierungslösung) filtriert	1 ml Aqua bidest.

3 ml Reagens 1 gut schütteln

10 min Zimmertemperatur

0,3 ml Reagens 2

gut schütteln

30 min Zimmertemperatur

Kuvette d = 0,5; Spekol 540 nm

c) Aufstellung der Eichkurve

Von der Eiweißstandardlösung wird folgende Ver-

dünnungsreihe hergestellt:

Standard (ml)	Aqua bidest. (ml)	entspricht Eiweiß (mg)
0,05	0,95	50
0,10	0,90	100
0,20	0,80	200
0,30	0,70	300
0,40	0,60	400
0,50	0,50	500

Mit je 1 ml jeder Verdünnungsstufe wird, wie unter b) beschrieben, verfahren.

d) Berechnung der Werte

Die über die Extinktion aus der Eichkurve abgelesenen Werte in mg Eiweiß wurden mit 3 (=Konservierungslösung in ml) multipliziert. Der so erhaltene Endwert repräsentiert das aus einer Standardstanze ausgetretene Eiweiß in mg.

B) Methode nach Biuret-Weichselbaum

a) Reagenzien

Biuretreagens modifiziert nach Weichselbaum:
zu 1,0 g Seignette-Salz in etwa 400 ml 0,2 n-NaOH, 15,0 g Kupfersulfat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) und nach vollständigem Lösen 5,0 g KJ; abschließend wird mit 0,2 n-NaOH auf 1000,0 ml aufgefüllt; das Reagens ist bei Zimmertemperatur 2 bis 3 Wochen haltbar.

Eiweißstandardlösung (für Eichkurve) wie bei Folin-Ciocalteu-Methode.

b) Bestimmung nach folgendem Schema:

Hauptwert	Leerwert
1,5 ml Probe	1,5 ml Aqua bidest.
2,5 ml Biuretreagens	
gut schütteln	
60 min Zimmertemperatur	
Küvette d = 1,0; Spekol 546 nm	

c) Aufstellung der Eichkurve

1,5 ml Eiweißstandardlösung sowie 1,0 ml Eiweißstandardlösung mit 0,5 ml Aqua bidest. wurden mit je 2,5 ml Biuretreagens versetzt und dann wurde weiter, wie oben beschrieben, verfahren. Die beiden Extinktionen wurden zur graphischen Darstellung der Eichkurve verwendet.

d) Berechnung der Werte

Die aus der Eichkurve abgelesenen Werte (mg Eiweiß) wurden mit 2 (1,5 ml Probe x 2 = 3 ml, was dem ursprünglichen Gesamtvolumen an Konservierungsflüssigkeit entspricht) multipliziert und durch 3 (da in jedem Reagenzglas 3 Hautstanzen vorgelegt worden waren) dividiert, womit der Endwert wieder den Eiweißverlust aus

einer Standardstanze in mg repräsentiert.

2.1.2.3.1.3. Morphologische Untersuchungen

Zur morphologischen Untersuchung wurden spezielle Proben (s. Tab. 1 und Abb. 1a) verwendet. Die Proben wurden jeweils geteilt und eine Hälfte fixiert, eingebettet und zur Anfertigung von H-E-Schnitten herangezogen, die andere Hälfte unfixiert geschnitten und mit Akridinorange fluorochromiert. Im Detail wurde folgendermaßen vorgegangen:

A) Hämalaun-Eosin-Präparate

- 10%ige neutrale wäßrige Formaldehydlösung - 5 bis 6 h;
- fließendes Leitungswasser - 30 min;
- 70%iges Äthanol - 1 h;
- 96%iges Äthanol - 1 h;
- absolutes Äthanol - 2mal, je 1 h;
- Xylol - 2mal, je 1 h;
- flüssiges Paraffin (Schmelzpunkt 56 - 59 °C) im Paraffinschrank (65 °C) - 15 bis 20 h;
- Gießen der Paraffinblöcke;
- Herstellen von etwa 6 µm dicken Schnitten mit einem Grundschlittenmikrotom Typ 1300 der Fa.Leitz, Wetzlar;
- Aufziehen und Strecken der Schnitte;
- Trocknen und teilweises Entparaffinieren der Schnitte im Paraffinschrank (65 °C);
- Xylol -2mal, je 5 min;
- absolutes Äthanol - 2mal, je 5 min;

- 96%iges Äthanol - 5 min;
- 70%iges Äthanol - 5 min;
- Aqua dest. - 5 min;
- saures Hämalaun nach P.Mayer - 5 bis 10 min;
- "Bläuen" in Leitungswasser - etwa 30 min;
- 1%iges wäßriges Eosin-Natrium (gelblich, wasserlöslich) - 3 min;
- Aqua dest.
- Xylol - 2mal, je 1 h;
- steigende Alkoholreihe (wie oben);
- Eindecken in synthetischen Kanadabalsam ("Durobalsam", Laborchemie Apolda);

Die Auswertung erfolgte am Mikroskop Lumipan des VEB Carl Zeiss Jena.

B) Akridinorange-Präparate

a) Reagenzien:

- Pufferlösung nach Michaelis (Barbital-Natrium-Puffer nach Michaelis - DAB 7) pH 7,0;

Natriumazetat . $3H_2O$		9,714 g
Azethylbarbital-Na		14,714 g
Aqua dest.	ad	500,0 ml

(im Kühlschrank bis 4 Wochen haltbar).

- Akridinorange-Stammlösung (1:1000)

Akridinorange (Fa. Merk, Darmstadt, BRD)		0,25 g
Aqua dest.	ad	250,0 ml

(im Kühlschrank bis 6 Monate haltbar).

- Akridinorange-Gebrauchslösung (1:10000)

  Akridinorange-Stammlösung 10 ml

  Michaelis-Puffer 90 ml

  (unmittelbar vor Verwendung hergestellt)

Herstellung der Präparate

- Anfertigen 10 µm dicker Schnitte mit Gefriermikrotom Typ OmP der Fa. Reichert, Wien;
- Michaelis-Puffer (s.o.) - 10 min;
- Akridinorange-Gebrauchslösung (s.o.) - 10 min;
- Michaelis-Puffer (s.o.) - 10 min;
- Eindecken in Michaelis-Puffer und Umranden der Deckgläschen mit Paraffin.

Von jedem Präparat wurden am großen Fluoreszenzmikroskop der Fa. Opton, Oberkochen (Württemberg, BRD) Belegaufnahmen angefertigt (HBO 200; Erregerfilter BG 3/4 mm; Neofluor 6,3fach; Okular 8fach; Tubusfaktor 1,25; Sperrfilterkombination 50/44; ORWO-CHROM UT 16 oder UT 18).

2.1.2.3.1.4. Untersuchungen auf Sterilität

Die für die Untersuchung auf Sterilität vorgesehenen Proben (s. Abbildung 1a und Tabelle III) wurden an das Bezirksinstitut für Blutspende- und Transfusionswesen Berlin weitergereicht und hier 90 Tage nach Versuchsbeginn der bakteriologischen Kontrolle unterworfen. Dabei wurde in Nährbouillon überimpft sowie nach DAB 7 auf Aerobier-, Anaerobier- und Pilzwachstum geprüft (Nährböden 2, Z 4, und 5 nach DAB 7).

2.1.2.3.2. Immunologische Untersuchungen (Transplantationsexperimente)

2.1.2.3.2.1. Versuchsaufbau

Von den nach 8 verschiedenen Methoden (s. 2.1.2.2.2.) konservierten Hautstanzen (Spender: Stamm Wistar-Rehbrücke) wurden jeweils 5 Empfängertieren (BDIX-Stamm) je 2 Proben in eine subkutane Hauttasche eingepflanzt. Nach 21 Tagen folgte eine orthotope Transplantation von 2 Frischhautstanzen von Wistarratten in entsprechende Defekte. Als Kontrollen dienten 10 BDIX-Tiere, bei denen 3 Wochen nach Einpflanzung von 2 vitalen Stanzen in eine Hauttasche die orthotope Transplantation durchgeführt wurde, sowie weitere 10 Tiere, die ohne Vorbehandlung Frischhauttransplantate erhielten (Ermittlung der Rejektionszeit nach second set bzw. first set). Einen Überblick über den Versuchsaufbau gibt Tabelle IV.

2.1.2.3.2.2. Durchführung der Versuche

Alle operativen Eingriffe wurden in i.p. Nembutalanästhesie (1 ml 0,06%ig. Nembutal/100 g KG) nach Einleitung mit Äthyläther durchgeführt.
Die Hauttaschen wurden von einem etwa 15 mm langen queren Einschnitt (Scherenschlag) am Rücken (halsnahe) aus stumpf präpariert. Nach Einlegen der Stanzen wurden sie durch eine Metallklammer verschlossen. Abschließend wurde die Haut über der Inzision mit Sepso oder Jodtinktur bestrichen und mit Kollodium übersprayt.

Zur orthotopen Transplantation mit vitaler Haut wurden nach elektrischer Schur des vorgesehenen Operationsgebietes mit einer speziellen, in der Werkstatt unserer Abteilung hergestellten Stanzzange (s. Abbildung 3) schwanzwärts von den Hauttaschen symmetrische Defekte mit einem Durchmesser von 15 mm gesetzt. In diese Defekte wurden dann entsprechend große Frischhautstücke (gewonnen nach 2.1.1.1.2.; s. auch Abbildung 1b und 2) eingelegt. Die Transplantate und ihre unmittelbare Umgebung wurden mit Kollodium besprayt und durch einen zirkulären Gipsverband geschützt, der nach 7 Tagen wieder entfernt wurde.

Die Tiere wurden einzeln gehalten und mit Standardfutter (Ratten-Mäusefutter (Versuchstiere) vom VEB Mischfutterwerk Berlin-Altglienicke) und Wasser ad libitum ernährt.

2.1.2.3.2.3. Auswertung der Versuche

Nach Abnahme des Gipsverbandes wurden die Transplantate täglich inspiziert und die Rejektionszeiten für jedes einzelne Transplantat notiert. Als Rejektion wurde gewertet, wenn mehr als 75 % der transplantierten Haut fehlten oder Abstoßungserscheinungen (Abhebung, Blutung, Auflösung, Abtrocknung etc.) zeigten. Aus den (in den Versuchsgruppen maximal 10, in den Kontrollgruppen maximal 20) Einzelwerten wurden die mittleren Rejektionszeiten errechnet.

14 Tage nach der Transplantation wurden alle Tiere durch Genickschlag getötet, und die beiden axillären bzw. ingui-

nalen Lymphknoten gewonnen. Das Gewicht der Lymphknoten wurde bestimmt und für die Versuchs- und Kontrollgruppen jeweils der mittlere Quotient "Gewicht der axillären Lymphknoten durch Gewicht der inguinalen Lymphknoten" bestimmt.

2.1.3. U n t e r s u c h u n g e n a n M ä u s e h a u t

2.1.3.1. Material

Für spezielle immunologische Untersuchungen zur Prüfung der Antigenität der konservierten Haut wurden Transplantationsexperimente mit Mäusen durchgeführt. Als Empfänger wurden 120 Mäuse vom B10.LP-Stamm -graubraun- ($H\text{-}2^b$) herangezogen; als Hautspender dienten 42 A-Mäuse -weiß- ($H\text{-}2^a$).
Es wurden ausschließlich männliche Tiere mit einem Gewicht von 28 bis 30 g verwendet. Für die Herstellung der zu konservierenden Proben wurde Rumpfhaut, für die Gewinnung der Zweittransplantate bzw. für die der Transplantate in der first-set-Kontrollgruppe Ohrhaut von durch Strecken getöteten Mäusen des A-Stammes herangezogen. Die Proben entsprachen hinsichtlich ihrer Form der in Abbildung 1a, die für die orthotope Transplantation (s. 2.1.3.3. und 2.1.3.4.) vorgesehenen hatten jedoch meist einen etwas geringeren Durchmesser (7 bis 8 mm).

2.1.3.2. Konservierungsmethoden

Nach Abbildung 1a hergestellte Proben (s. 2.1.3.1.) wurden

wie unter 2.1.2.2.2. konserviert und gelagert. Abweichend davon kam jedoch TBS als 1,0%ige Lösung und BPL ausschließlich als 0,01%ige Lösung zum Einsatz. Außerdem wurden zum Vergleich die Tieftemperaturlagerung (TTL) mit einer Lagerungstemperatur von -38 °C und die Gefriertrocknung (GT) herangezogen.

2.1.3.3. Versuchsaufbau

Mit den nach 8 Methoden (s. 2.1.3.2. bzw. 2.1.2.2.2.) konservierten Proben (Spender: A-Mäuse) wurden jeweils 12 Rezipiententiere (B10LP-Stamm) durch Einlegen von jeweils ein Probe in eine subkutane Hauttasche sensibilisiert. Drei Wochen darauf wurde je eine vitale Ohrhautprobe von A-Mäusen orthotop in einen entsprechend großen Hautdefekt eingepflanzt.

Zur Kontrolle wurden bei 12 B10LP-Tieren zur Sensibilisierung vitale Körperhautstanzen (10 mm Durchmesser) in Hauttaschen eingelegt und nach 3 Wochen vitale Ohrhautstücke (Durchmesser 7 bis 8 mm) von A-Mäusen orthotop transplantiert. Bei weiteren 12 Tieren wurde allein eine orthotope Transplantation von Hautproben aus den Ohren (A-Mäuse) durchgeführt. Die Kontrollen dienten der Ermittlung der second-set- bzw. first-set-Rejektionszeit. Tabelle V gibt einen Überblick über die Versuchsanordnung.

2.1.3.4. Durchführung der Versuche

Die Operationen wurden in Anästhesie (Nembutal: 1 ml 0,1%ig/100 g KG, i.p.) vorgenommen.

Die Präparation der Hauttaschen erfolgte (nach elektrischer Schur und Besprayn des Operationsgebietes mit Akutol) stumpf, von einem 7 mm langen queren Scherenschlag aus. Die halsnahen am Rücken gelegenen Taschen wurden nach Einlegen der Hautproben durch 3 Knopfnähte oder durch eine Knopfnaht und 2 Klammern verschlossen. Abschließend wurde das Wundgebiet mit "Berlicetin nur für Tiere" (VEB Jenapharm Ankerwerk Rudolstadt) übersprayt. Die orthotope Transplantation vitaler Ohrhaut erfolgte nach Präparation eines entsprechenden, annähernd runden Defektes mittels Schere (bei Zweittransplantation distal von der Hauttasche). Dazu wurde die Ohrhaut wie folgt vorbereitet: Abschneiden der Ohren; stumpfes Abziehen der Haut, wodurch von jedem Ohr 2 Transplantate gewonnen werden (entsprechend der inneren bzw. äußeren Ohrbedeckung); Einlegen der Transplantate in physiologische Kochsalzlösung bis zur Verwendung. Die Transplantate wurden dann auf die vorbereiteten Defekte gelegt und mittels Pinzette adaptiert. Das Transplantationsgebiet wurde mit "Berlicetin nur für Tiere" (s.o.) besprayt und mit einem Lanolin-Silk-Läppchen bedeckt (Präparation der Lanolin-Silk-Läppchen: Herstellung der Läppchen aus reiner Seide; Einlegen in Petrischalen; Übergießen mit erhitztem Lanolin-Glyzerin-Gemisch 2 : 1; Verschluß der Petrischalen; vor Verwendung Sterilisation der Läppchen in den Petrischalen

im Heißluftsterilisator bei 180 °C über 1 h. Abschließend wurde ein zirkulärer Gipsverband angelegt.

Im Anschluß an die Operation kamen die Tiere für 15 bis 30 min unter Rotlicht und dann zu je vieren in einen Käfig. Nach 8 Tagen wurde der Gipsverband entfernt. Die Tiere erhielten Standardfutter (s.2.1.2.3.2.2.) und Wasser ad libitum.

2.1.3.5. Auswertung der Versuche

Ab 8. Tag post transplantationem (nach der Abnahme des Gipsverbandes) wurden die orthotopen Ohrhauttransplantate täglich untersucht und ihre Verhaltensweise notiert. Als Rejektionstermin wurde der Tag vermerkt, an dem mehr als 75 % der transplantierten Haut Abstoßungsmerkmale erkennen ließen. Aus den maximal 12 Einzelwerten pro Versuchs- oder Kontrollgruppe wurde dann jeweils die mittlere Rejektionszeit errechnet. Zum Versuchsende (14 Tage post transplantationem) wurden die Tiere durch Überstreckung der Wirbelsäule getötet. Nach einem Scherenschlag wurde aus den Venae jugulares Blut gewonnen und Serum nach Abzentrifugieren der Erythrozyten eingefroren. Das im Tiefkühlschrank gelagerte Serum wurde später zum Mikrolymphozytotox-Test (s. unten) herangezogen. Anschließend wurden die axillären und inguinalen Lymphknoten gewonnen. Aus Gewichtsbestimmungen wurden dann die mittleren Gewichte bzw. der mittlere Quotient "Axilläre Lymphknoten durch inguinale Lymphknoten" errechnet.

Die Suche nach lymphozytotoxischen Antikörpern im wieder aufgetauten Serum (s.oben) erfolgte in Terasaki-Kammern unter Verwendung von Lymphknotenlymphozyten von A-Mäusen als Antigen, von menschlichem AB-Serum als Komplement und von Eosin als Indikator. Der Test wurde 3mal durchgeführt. Als positiv wurden Reaktionen mit mehr als 50 % toten Zellen gewertet.

2.1.4. Untersuchungen an menschlicher Haut

2.1.4.1. Material

2.1.4.1.1. Physikalische, chemische und bakteriologische Untersuchungen

Die Vollhaut wurde 14 h nach dem Tod von den Oberschenkeln eines 16jährigen Mädchens (Todesursache Hirntumor) gewonnen. Nach Abpräparieren des subkutanen Fettgewebes wurden Stanzproben nach Abbildung 1a und 1c hergestellt.

2.1.4.1.2. Spezielle Sterilitätsuntersuchungen

Von einem 25 Jahre alten, an Ewingsarkom verstorbenen Mann wurde Oberschenkelhaut 6 h nach dem Tod wie unter 2.1.4.1.1. gewonnen und daraus Stanzproben nach 1a hergestellt.

2.1.4.2. Konservierungsmethoden

2.1.4.2.1. Physikalisches, chemische und bakteriologische Untersuchungen

Die nach 2.1.4.1.1. gewonnenen Vollhautproben wurden in Reagenzgläser mit der zu testenden Konservierungslösung gebracht (s. dazu Tabelle VI). Geprüft wurden in dieser Reihe PES, BPL-0,01%, FA, CA, MT und GA in den unter 2.1.2.2.1. angegebenen Konzentrationen bzw. pH-Werten. Alle Proben wurden 3 Wochen lang im Kühlschrank (4 °C) bzw. bei Zimmertemperatur (20 bis 22 °C) aufbewahrt; von Glutaraldehyd wurden ausserdem für die chemische Untersuchung Proben nach 1a unter gleichen Temperaturbedingugen 3 Monate lang gehalten.

2.1.4.2.2. Spezielle Sterilitätsuntersuchungen

Die nach 2.1.4.1.2. gewonnenen Proben wurden in 100 ml-Erlenmeyerkölbchen mit 20 ml Konservierungslösung eingebracht (s. Tabelle VII). Als Konservierungslösungen wurden geprüft: PES in 1%iger und 0,1%iger Konzentration, BPL in 0,01%iger Konzentration sowie FA, CA, MT und GA wie unter 2.1.2.2.1. angegeben. Die Untersuchung auf Sterilität bzw. die bakteriologische Differenzierung eventuell gewachsener Keime erfolgte nach 3wöchiger Lagerung bei Zimmertemperatur (20 bis 22 °C), und zwar am Institut für medizinische und allgemeine Mikrobiologie, Virologie und Epidemiologie der Humboldt-

Universität zu Berlin. Als Kontrolle dienten Frischhautproben, die keiner Konservierungs- bzw. Sterilisationsprozedur unterworfen worden waren. Außerdem wurde der zur Herstellung der Konservierungslösungen verwendete Phosphatpuffer nach Sörensen auf Sterilität geprüft (zum Gesamtaufbau dieser Untersuchungen siehe Tabelle VII).

2.2. ERGEBNISSE

2.2.1. Untersuchungen an Rattenhaut

Die physikalischen Untersuchungen zur Erfassung einer eventuellen Beeinflussung der Zerreißfestigkeit erbrachten eine gegenüber den Kontrollen statistisch signifikante Erhöhung der entsprechenden Meßwerte für FA-behandelte Haut; die Differenz ist bereits 24 Stunden nach Einlegen in die FA-Lösung festzustellen (s. Tabelle VIII, IX, X sowie Abbildung 4). FA-Haut erwies sich auch durchgehend fester als CA- und MT-Haut. Ab drittem Versuchstag war auch gegenüber BFL und zum Teil (3., 7., 90. Tag) gegenüber PES eine gleichgerichtete signifikante Differenz zu beobachten. Nur die Unterschiede zwischen den Werten für FA- und CA-Haut können (mit Ausnahme der nach 3tägiger Lagerung erhobenen Werte) als zufällig angesehen werden. - Bei Behandlung mit anderen Konservierungsmitteln als FA waren gegenüber den Kontrollen keine signifikanten Differenzen zu erheben. Gelegentlich

mathematisch signifikante Unterschiede dieser Versuchsgruppen untereinander (1., 3., 7., 21. Tag), die sich übrigens nicht systematisieren lassen, dürfen wohl als zufälliger Ausdruck der beträchtlichen Streuung angesehen werden.

Hinsichtlich der Dehnbarkeit (s. Tabellen XI, XII und XIII sowie Abbildung 5) ist vor allem eine über den gesamten Versuchszeitraum reichende signifikante Herabsetzung der GA-Werte gegenüber den K-Werten hervorzuheben. Die Reduktion der mittleren Dehnbarkeitswerte für GA-Haut ist außerdem gegenüber FA-Haut durchgehend und gegenüber Haut der BPL-, CA- und MT-Gruppe am 1., 7. und 21. Tag signifikant. Für den 21. Tag liegt außerdem auch im Vergleich zu PBS-Haut Signifikanz vor. Weitere Differenzen der Versuchsgruppen untereinander sind nach unseren Befunden als zufällig anzusehen.

Unsere chemischen Untersuchungen erbrachten zum Eiweißverlust die in den Tabellen XIV, XV und XVI sowie der Abbildung 6 zusammengestellten Ergebnisse: wenn man die 90-Tage-Werte ausklammert, die offensichtlich durch eine starke Verpilzung der Proben verfälscht sind, so fällt auf, daß vor allem die Lagerung in 1%igem BPL, aber auch die Lagerung in GA mit einem beträchtlichen Eiweißverlust verbunden ist. Die Differenzen zwischen den einzelnen Versuchsgruppen sind (trotz z.T. unterschiedlicher Richtung im Versuchsablauf) bei geringer Streuung der Einzelwerte schon ab 1. Tag bis einschließlich 21. Tag nahezu ausnahmslos statistisch signifikant.

Die Ergebnisse unserer morphologischen Untersuchungen haben wir in der Abbildung 7 zusammengefaßt. In der hier gewählten halbquantitativen Darstellung werden die strukturellen Veränderungen - im Sinne einer "Alteration" bzw. "Degradation" - durch die Schweregrade 1 bis 3 repräsentiert, wobei 1 (gering verändert) für abgeschwächte Kernfärbbarkeit und/oder leichte Verquellung der Bindegewebsfasern und/oder geringe Epidermiolyse, 2 (stark verändert) für stark abgeschwächte bis aufgehobene Kernfärbbarkeit und/oder starke Verquellung der Bindegewebsfasern und/oder starke Epidermiolyse und schließlich 3 für völlige Auflösung aller Strukturen steht. Aus der Abbildung ist zu entnehmen, daß BIL-1,0% innerhalb eines Tages die Haut in eine praktisch strukturlose (makroskopisch bzw. der Konsistenz nach schmierige) Masse umwandelt sowie daß nach CA-Behandlung ab 3. Tag, nach BPL-0,01% und MT-Behandlung ab 7. Tag und nach PBS-Behandlung ab 14. Tag eine "Degradation" einsetzt, die ab 7. bis 21. Tag in den Schweregrad 2 einzustufen ist; zwischen 21. und 90. Tag ist kein Fortschreiten der strukturellen Veränderungen mehr zu verzeichnen. Im Gefolge der Konservierung in FA, das ja als in der Histologie meist verwendetes Fixierungsmittel Bilder mit Referenzcharakter liefert, oder CA sind innerhalb des Beobachtungszeitraumes keinerlei morphologische Alterationen zu erfassen.

Die Sterilitätsuntersuchungen (Tabelle XVII) ergaben in allen Fällen von FA- oder CA-Konservierung Keimfreiheit. Nach 90 Tagen waren auch noch 3 von 5 PBS-Proben steril. Die BIL-0,01%

CA- und KT-Präparate erwiesen sich durchwegs als stark verkeimt.

Bei den immunologischen Untersuchungen wurde gefunden, daß die Lymphknotenindizes (LI) - s.Tab.XVIII - in allen Versuchsgruppen (Sensibilisierung mit chemisch konservierter Haut und Zweittransplantation vitaler Haut) und den beiden Konservierungskontrollgruppen (Sensibilisierung mit physikalisch-TTL oder GT-konservierter Haut und Zweittransplantation mit Frischhaut) um den bei den second-set-Kontrollen erhaltenen (LI_{SSK} 4,3) herum liegen. Alle diese Indizes zusammen weichen ihrerseits im Sinne einer Erhöhung deutlich vom Index der first-set-Kontrollen (LI_{FSK} 2,3) ab.

Die mittleren Rejektions-(Überlebens-)zeiten (ÜZ) von vitalen Zweittransplantaten nach vorhergehender Implantation der zu prüfenden konservierten Präparate in eine Hauttasche finden sich in Tabelle XIX zusammengestellt. Nach Sensibilisierung mit TTL- oder GT-Haut entspricht die Rejektionszeit der Zweittransplantate derjenigen der first-set-Kontrollen ($ÜZ_{TTL}$ 10,4; $ÜZ_{GT}$ 10,5; $ÜZ_{FSK}$ 10,2). Nach Ersteinpflanzung chemisch konservierter Proben war hingegen stets eine, wenn auch nur geringe, Verkürzung der Rejektionszeit zu beobachten (ÜZ 8,3 bis 10,0).

2.2.2. Untersuchungen an Mäusehaut

Der Lymphknotenindex (LI)(s.Tabellen XX und XXI) liegt in

den 5 Versuchsgruppen (die CA-Gruppe fiel wegen Verpilzung der Proben aus), den beiden Konservierungskontrollgruppen (TTL und GT) sowie den FSK und SSK (LI 3,4 bis 5,3) statistisch signifikant über dem mittleren Index unbehandelter Kontrollen (LI 2,3). In allen Versuchs- und den beiden Konservierungskontrollgruppen ist der Index höher als bei den FSK (LI 3,8 bis 5,3 gegenüber LI_{FSK} 3,4). Die entsprechende Differenz kann aber nur im Vergleich zu BFI, MT, TTL und GT (LI 4,9; 5,2; 5,3; 5,2) als überzufällig angenommen werden. Keine der Versuchs- und Kontrollgruppen mit Ausnahme der unbehandelten Kontrollen unterscheidet sich signifikant von den SSK. Eine überzufällige Differenz besteht aber zwischen PES-Gruppe (LI 3,8) und TTL-Gruppe (LI 5,3).

Die Überlebens-(abstoßungs-)zeit (ÜZ) - Tabellen XXII und XXIII - ist nach Sensibilisierung mit chemisch konservierter Haut gegenüber den FSK und den Konservierungskontrollen reduziert (ÜZ 8,3 bis 8,7; $ÜZ_{FSK}$ 9,2; $ÜZ_{TTL}$ 9,0; $ÜZ_{GT}$ 9,2), wobei nur die Differenz zwischen FA (ÜZ 8,3) einerseits und FSK, TTL und GT (Werte s. oben) anderseits signifikant sind. Durchgehende Signifikanz besteht zwischen der stark verkürzten ÜZ in der SSA-Gruppe und den entsprechenden Werten aller Versuchs- bzw. (weiteren) Kontrollgruppen.

Lymphozytotoxische Antikörper (LAK)- Tabelle XXIV - waren bei den unbehandelten Kontrollen - wie zu erwarten - nicht nachzuweisen. In der FSK- und der SSK-Gruppe konnten solche

Antikörper bei 33 bzw. 50 %, in der FTL- und der GT-Vergleichsgruppe bei je 20 % der Tiere gefunden werden. Nach Implantation chemisch konservierter Haut und nachfolgender Zweittransplantation erhielten wir positive Mikrolymphozytotoxtests in der BFL-, der MT- und der FA-Gruppe (13 %; 27 %; 38 %), negative (LZA waren nicht nachzuweisen) in der PNS- und der CA-Versuchsgruppe.

2.2.3. Untersuchungen an menschlicher Haut (Leichenhaut)

Die vorgesehenen physikalischen Untersuchungen konnten nicht durchgeführt bzw. ausgewertet werden, da bis auf wenige Proben alle aus den Backen der Einspannvorrichtung des Prüfgerätes ausrissen.

Bei den chemischen Untersuchungen (Tabelle XXV) fanden wir einen relativ hohen Eiweißverlust nach Lagerung der Proben in PNS, BFL, CA und GA, einen geringen nach FA- und MT-Lagerung. Beim Vergleich von 4 °C- und 22 °C-Lagerung war nur in der PNS- und der BFL-Gruppe eine deutliche Temperaturabhängigkeit im Sinne einer Erhöhung des Eiweißausstromes in die Konservierungslösung bei der höheren Zimmertemperatur festzustellen.

Die routinemäßigen Sterilitätsuntersuchungen, die neben den physikalischen und chemischen einherliefen, ergaben die in Tabelle XXVI zusammengestellten Befunde. Sterilität bei allen

Einzelproben erhielten wir nur in der bei 22 °C aufbewahrten FA-Gruppe. Gezielte Untersuchungen auf Sterilität in Zusammenhang mit den hier getesteten chemischen Konservierungsverfahren erbrachten wesentlich günstigere Befunde (s. Tabelle XXVII): Nur CA und BT erwiesen sich als für unsere Zwecke ungeeignet, da sie Sterilität unter den gewählten Versuchsbedingungen nicht garantieren. Aufbewahrung in IZS in 2,0- wie in 0,2%iger Konzentration, in BFL in 0,01%iger Konzentration sowie in FA und in GA führten hingegen bei 100 % der Hautstücken-Proben zu Keimfreiheit.

3. EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR BEHANDLUNG VON VERBRENNUNGEN DURCH TRANSPLANTATION KONSERVIERTER HAUT

3.1. MATERIAL UND METHODIK

3.1.1. Tiermaterial

In dieser Versuchsserie haben wir 82 Mäuse vom B10LP-Stamm (graubraun) - H-2^b - als Empfänger und 25 weiße B17-Mäuse - H-2^k - als Hautspender benutzt. Es wurden ausschließlich weibliche Tiere und zwar mit einem Gewicht von 28 bis 30 g verwendet. Die benötigten Hautproben entsprechend Abbildung 1a wurden aus der Rumpfhaut gewonnen.

3.1.2. Setzung standardisierter Verbrennungen

3.1.2.1. Beschreibung der verwendeten Apparatur

Nach Vorversuchen mit einer von Neuffen und Kramer entwickelten Apparatur, die mit einer 150-Watt-Rotlichtlampe arbeitet und sich uns als äußerst störanfällig erwiesen hatte, bauten wir eine eigene Einrichtung, bei welcher der für die Wärmeübertragung und Setzung der

Verbrennungen verwendete runde Kupferstab (Durchmesser 10 mm) zwischen Zimmertemperatur und 350 °C mit einer Genauigkeit von ±0,5 °C thermostatisierbar ist. Der technische Aufbau geht aus Abbildung 8 hervor (s. auch Abbildungen 9 und 10).

3.1.2.2. Setzung der Verbrennungen

Die B1[illegible]-Mäuse wurden mit Äther anästhesiert und am Rücken (vordere Hälfte) elektrisch rasiert. Dann wurde durch Aufsetzen des auf 150 °C aufgeheizten Kupferstabes (Anheizzeit vor Versuchsbeginn 15 min) der oben (3.1.2.1.) beschriebenen Apparatur halsnahe die gewünschte Verbrennung 3. Grades gesetzt, wozu eine Kontaktzeit von 20 s benötigt wurde.

3.1.3. T r a n s p l a n t a t i o n s m a t e r i a l

Die für die Transplantation vorgesehenen Hautstücke von B1)-Mäusen wurden nach Abbildung 1a (s. 2.1.2.1.1.) präpariert und wie unter 2.1.2.2.2. angegeben konserviert und gelagert. Abweichend davon kam BrL als 0,01%ige Lösung zum Einsatz und betrug die Lagerungstemperatur bei der TTL -58 °C. Einen Überblick gibt dazu Tabelle XXVIII.

3.1.4. T r a n s p l a n t a t i o n

24 Stunden nach der Verbrennung (3.1.2.2.) wurden die

Tiere mit Nembutal anästhesiert (s.2.1.3.4.). Dann wurde mittels Schere die Verbrennungsnekrose bis zur Blutung entfernt. Das Wundbett mit den zu testenden, über 30 min (PBS, RPL, CA, MT, TTL, GT) bzw. 24 h (FA, GA) in steriler physiologischer Kochsalzlösung gewässerten Testproben bedeckt, Lanolin-Silk-Läppchen aufgebracht und ein Gipsverband angelegt (s. dazu 2.1.3.4. und Abbildung 11). Die Tiere wurden gezeichnet, für 15 bis 20 min unter Rotlicht gesetzt und in Gruppen zu 8 in Käfige gebracht.

3.1.5. Haltung der Tiere und Auswertung der Befunde

3.1.5.1. Haltung der Tiere

Die Tiere bekamen Standardfutter (s. 2.1.2.3.2.2.) und Wasser ad libitum.

3.1.5.2. Auswertung der Befunde

Täglich wurde der Allgemeinzustand kontrolliert und die Wunden der Gruppe ohne Behandlung von Anfang an, die der anderen Gruppen ab 8. Tag post operationem begutachtet. Tod von Tieren, Wundinfektionen, Verlust der Transplantate und Heilung der Wunde wurden protokolliert.

Am 14. und 21. Tag nach der Verbrennung wurde nach Kappen der Schwanzspitze mittels Kapillaren Blut entnommen.

Das durch Zentrifugieren erhaltene Serum wurde in Terasaki-Kammern getropft und die Kammern bis zur Verwendung in einen Tiefkühlschrank gestellt. Nach Auftauen und Auflösung der Proben mit Aqua dest. erfolgte wieder die Durchführung des Mikrozytotoxtestes unter Verwendung von Lymphknotenlymphozyten von B17-Mäusen als Antigen, von menschlichem AB-Serum als Komplement und von Eosin als Indikator.

Am Versuchsende, 30 Tage nach Setzung der Verbrennungen, wurden alle noch lebenden Tiere durch Überstrecken der Wirbelsäule getötet, die axillären und inguinalen Lymphknoten gewonnen und gewogen und die erhaltenen Werte zur Bildung von Lymphknotenindizes verwendet (s. 3.1.2.3.2.3. und 2.1.3.5.).

3.2. ERGEBNISSE

Offensichtlich auf Grund der schweren Verbrennungen sind vorzeitig gestorben (und konnten nicht in die Auswertung einbezogen werden - s. Tabelle XXII): 50 % der unbehandelten Kontrollen, 12 % der mit Frisch-, TTL- oder ST-Hauttransplantaten behandelten Tiere sowie je 25 % der Tiere, bei denen die Nekrektomiewunden mit FXS-, BTL-, FA-, CA- oder ET-Haut gedeckt worden war. Nur in der CA-Gruppe blieben alle Tiere am Leben.

Was die Zeit bis zum Transplantatverlust, die Abstoßungszeit betrifft, so schwankt sie zwischen 9,7 (RFT) und 13,8 (GA) Tagen; für Frischhaut liegt sie bei 13,1 Tagen. Die entsprechenden Werte für die einzelnen Versuchs- und Kontrollgruppen sind aus Tabelle XXIX zu entnehmen.

Eine Wundheilungszeit (WHZ) können wir nur für diejenigen Gruppen angeben, bei denen der Heilungsprozeß zum Versuchsende (30 Tage nach Setzung der Verbrennungen) bereits abgeschlossen war (PEB-, GA-, GA-, TTL-, GT- und Frischhautgruppe). Die WHZ schwankt von 18,5 Tagen (GA) bis 21,7 Tagen (TTL), nach Frischhauttransplantation liegt sie bei 20,4 Tagen. Zum Versuchsende hatten in der BFT-Gruppe noch 2 von 6 Tieren (33 %), in der FA- und der MT-Gruppe je 1 von 6 Tieren (17 %) kleine Restwunden (etwa 3 mm Durchmesser). Nur bei einem der fünf zur Auswertung gelangten unbehandelten Kontrolltiere war eine vollständige Heilung der Verbrennungswunde festzustellen; von den übrigen Tieren zeigte 1 noch eine große (fast 10 mm Durchmesser) und 2 noch eine mittelgroße (etwa 6 mm Durchmesser) nicht epithelisierte Wundfläche.

Das Verhalten der chemisch konservierten sowie der zum Vergleich herangezogenen physikalisch konservierten Haut bzw. Frischhaut 7 Tage nach Nekrektomie und Transplantation ist aus den Abbildungen 12 bis 20 zu entnehmen. In den Abbildungen 21 bis 30 ist dann der Zustand des Nekrektomie-Transplantationsgebietes bei Tieren aller Versuchs- und Kontrollgruppen 18 Tage post transplantationem dokumentiert.

Der Lymphknotenindex (LI) - s. Tabelle XIX - reicht bei den mit Transplantation behandelten Tieren von 1,9 (FRS) bis 2,8 (GA); nach Frischhautdeckung liegt er bei 2,3. In der Kontrollgruppe ohne Behandlung wurde ein LI von 1,6 gefunden.

In 2 Wochen nach der Verbrennung gewonnenen Seren der Kontrollgruppe ohne Transplantation waren überraschenderweise bei 40 % der Tiere lymphozytotoxische Antikörper (LZA) - genauer: positive Mikrolymphozytotoxtests - nachzuweisen (bzw. zu erzielen). Wie aus der Tabelle XXXI ersichtlich, waren zu dieser Zeit darüber hinaus noch in folgenden Versuchs- und Kontrollgruppen LZA zu erfassen: LT (33 %), GA (38 %), TTL (29 %), GT (50 %) und Frischhaut (29 %). Nach 3 Wochen beobachteten wir positive Tests nur mehr in der GA-, der TTL- und der Frischhautgruppe (13 %; 14 %; 29 %).

4. KLINISCHE UNTERSUCHUNGEN

4.1. MATERIAL UND METHODIK

4.1.1. Gewinnung des Transplantationsmaterials

Die Haut wurde vom Oberschenkel einer 33jährigen weiblichen Leiche (Todesursache Hirnblutung bei intrazerebralem Aneurysma) 2,5 h nach dem Tod mit einem Elektrodermatom nach Kollovitz (Fa. Howmedica Int.Inc., Kiel, BRD) gewonnen. Aus den beiden 100 mm breiten, 250 mm langen und 0,4 mm dicken Spalthautstreifen wurden mit einem Korkenbohrer (Abbildung 2) 60 Hautproben mit einem Durchmesser von jeweils 10 mm hergestellt (s. 2.1.2.1.1. und Abbildung 1a).

4.1.2. Konservierung des Transplantationsmaterials

Die nach 4.1.1. gewonnenen Proben wurden zu je 10 nach 6 verschiedenen Verfahren konserviert. Das methodische Vorgehen entspricht den Angaben unter 2.1.2.2.1. Es kamen alle dort genannten Medien mit Ausnahme von Br. 1,0 % zum Einsatz. Die Proben wurden bis zur Anwendung - nach 3 bis 6 Wochen - bei Zimmertemperatur gehalten.

4.1.3. T r a n s p l a n t a t i o n

Vor der Transplantation wurden die 10 FA- bzw. 10 CA-Präparate über 48 h in jeweils 30 ml 8mal gewechselter physiologischer Kochsalzlösung "gewässert", um Reizerscheinungen durch freies FA bzw. CA zu vermeiden. Die Proben der restlichen 4 Konservierungsgruppen wurden 6 h vor der Verwendung gruppenweise ebenfalls in 30 ml physiologischer Kochsalzlösung eingelegt.

Die Transplantationsversuche führten wir bei 10 Patienten mit Ulcera cruris durch. Da die Ulcus cruris-Wunde erfahrungsgemäß gegen äußere Einflüsse sehr resistent ist und eine Verschlechterung des Krankheitsbildes nicht zu erwarten war, war dieses Vorgehen ärztlich vertretbar. Es wurden möglichst solche Patienten ausgewählt, bei denen die Ulkusfläche mindestens handtellergroß war, um mehrere, verschieden konservierte Hautläppchen nebeneinander überprüfen zu können. Um Verwechslungen auszuschalten, wurden die Läppchen immer in der gleichen Reihenfolge (PEK, NPL, FA, CA, MT, GA), von oben links beginnend nach unten rechts (bei jedem Patienten 6 Hautstückchen), aufgelegt.

Vorbereitend erhielten die Patienten 8 Tage lang Verbände mit physiologischer Kochsalzlösung, um so die Wundflächen völlig zu säubern und von eventuellen Salbenresten zu befreien. Erst wenn dies gelungen war und sich eine rosafarbene frische Wundgranulation zeigte, erfolgte die Transplantation. Bei allen 10 Patienten wurde die Verbandkon-

trolle 2tägig durchgeführt. Als Verband wurde lediglich steriler Mull benutzt, um jede äußere Beeinflussung zu unterbinden.

4.1.4. A u s w e r t u n g

Zur Auswertung wurde der Zustand der Transplantate sowie das Aussehen des Transplantatbettes herangezogen.

4.2. ERGEBNISSE

Das Haften der verschieden konservierten Hautproben auf der Unterlage (dem Wundbett) ist außerordentlich unterschiedlich: es reicht von 3 bis zu 15 Tagen. Nach 10 Tagen haften noch etwa 30 % der mit FES, FA, MT und GA vorbehandelten Transplantate, so daß sie nur mit der Pinzette entfernt werden konnten; die Wundfläche war in diesen Fällen sauber und ließ punktförmige Blutungen erkennen. Bei etwa 20 % der mit diesen Mitteln konservierten Proben war ab 3. bis 7. Tag ein Haften auf der Unterlage nicht mehr festzustellen. Die Wundfläche erwies sich dann als eitrig belegt oder z.T. auch als ausgetrocknet. Unter den BAL- oder CA-behandelten Hautproben

machte sich sehr frühzeitig ein Befall mit Pyocyaneus bemerkbar, so daß teilweise schon nach 3 Tagen die Läppchen abschwammen und Maßnahmen zur Reduzierung der Sekundärinfektion ergriffen werden mußten.
Einen Überblick über die Befunde bzw. über die Einschätzung des Behandlungserfolges gibt Tabelle XXXII.

In keinem Fall wurden Reizerscheinungen im Bereich der Wundfläche bzw. deren Umgebung beobachtet oder eine Zunahme der Schmerzhaftigkeit der Ulcera festgestellt.

Bei einem Patienten kam es 14 Tage, bei einem anderen 16 Tage nach der Transplantation, d.h. 4 bzw. 6 Tage nach Entfernung der Hautproben zu einer vollständigen Abheilung (Epithelisierung) der Geschwüre. Beachtlich ist dabei, daß die Ulcera bereits 1,5 bzw. 3 Jahre bestanden und sich anderen Maßnahmen gegenüber bisher als resistent erwiesen hatten.

5. DISKUSSION UND SCHLUSSFOLGERUNGEN

5.1. CHEMISCHE KONSERVIERUNG UND PHYSIKALISCHE, CHEMISCHE UND MORPHOLOGISCHE EIGENSCHAFTEN DER HAUT

Veränderungen der physikalischen, chemischen und morphologischen Eigenschaften der Haut im Gefolge der Konservierung bzw. der Lagerung kommt hinsichtlich der Eignung der konservierten Haut als biologischer Wundverband keine große primäre Bedeutung zu. Diese Eigenschaften können in weiten Grenzen von der Norm abweichen, wenn nur eine gewisse minimale Stabilität und Dichtigkeit einerseits sowie eine ausreichende Plastizität anderseits erhalten bleibt. Die Untersuchungen auf Zerreißfestigkeit und Elastizität, auf Eiweißverlust und auf feingewebliche Veränderungen sollten uns Hinweise auf den unmittelbaren Einfluß der Konservierungsmedien und vor allem auf Art und Grad einer während der Lagerung bei Zimmertemperatur auftretenden bzw. fortschreitenden Degradation liefern.

In der Literatur fanden wir keine unseren ähnliche Untersuchungen und auch Detailangaben nur sehr spärlich.
So weisen Richter und Palkoska (1969) darauf hin, daß eine Lagerung von Haut in 4%iger azetatgepufferter (pH 5,6) Formaldehydlösung über 6 bis 48 Stunden wohl zu einem ge-

wissen Formsverlust, aber sonst zu keinen wesentlichen Veränderungen der morphologischen Beschaffenheit, insbesondere auch zu keinen störenden Einbußen an Elastizität und Modellierfähigkeit führt. Die anschließend in steriler 0,9%iger Kochsalzlösung umgelagerten Präparate sind monatelang haltbar. Im übrigen ist allgemein bekannt, daß Formaldehyd mit zunehmender Lagerungsdauer zu einer Konsistenzerhöhung der Gewebe (sie werden steifer) führt (Huber 1954).

Über den Einfluß einer Glutaraldehydkonservierung auf die Haut fanden wir keine Angaben, es ist sehr wahrscheinlich, daß die Auswirkungen von Glutaraldehyd denen von Formaldehyd unmittelbar vergleichbar sind. Nach Jazbašić und Krpić (1967) ist in 0,1%igem Merthiosal über 2 Wochen bis 6 Monate bei Zimmertemperatur aufbewahrte Haut von "weißlich-grauer Farbe, sehr fest und widerstandsfähig auf Zug und Zerrung", wobei zu beachten ist, daß die Präparate "durch den Konservierungsprozeß bis 30 % von ihrer Größe einbüßen" können. Merthiosalhaut ist nach diesen Autoren histologisch durch einen "Schwund der Zellkerne, der Talgdrüsen und der Haarmäntel" charakterisiert. Einschlägige Hinweise zum Einfluß von Cialit, Betapropiolakton und Peressigsäure waren in der von uns berücksichtigten Literatur nicht aufzufinden.

Die Ergebnisse unserer eigenen Untersuchungen verallgemeinernd können wir feststellen (s. dazu auch Tabelle XXIII):

Peressigsäurelagerung führt zu keinen wesentlichen Änderungen der physikalischen Eigenschaften; ein mäßig starker Eiweißverlust ist mit morphologischen Veränderungen ab 2. Woche verbunden. Betapropiolakton führt in 1%iger Konzentration zu einer weitgehenden Auflösung der Strukturen und zu einer Umwandlung in eine schmierige grauweißliche weiche Masse. In 0,1%iger Konzentration ist der durch Betapropiolakton bewirkte Eiweißverlust zwar ebenfalls nur als mäßig hoch zu bezeichnen, eine Degradation des feingeweblichen Bildes aber schon ab 7. Tag festzustellen. Formaldehyd erhöht deutlich die Zerreißfestigkeit (ohne die Dehnbarkeit stärker zu beeinflussen), der Eiweißverlust formaldehydgelagerter Haut ist gleich Null, und morphologische Veränderungen lassen sich nicht erfassen. Die Anwendung von Cialit hat keine stärkeren Auswirkungen auf die von uns bestimmten physikalischen Parameter; bei geringem Eiweißverlust zeigen sich aber schon ab 3. Tag deutliche histologische Veränderungen der in Cialit gelagerten Haut. Auch mit Merthiosal behandelte Haut behält im wesentlichen ihre Festigkeit und Dehnbarkeit und läßt (ab 7. Tag) eine zunehmende strukturelle Degradation erkennen, wobei der Eiweißverlust allerdings praktisch zu vernachlässigen ist. Glutaraldehyd führt hingegen zu einem doch recht bemerkenswerten Eiweißaustritt in die Konservierungsflüssigkeit, ohne daß Veränderungen der Feinstruktur zu erkennen wären; die Zerreißfestigkeit glutaraldehydbehandelter Haut erweist sich als erhöht, die Elastizität als herabgesetzt.

Anders ausgedrückt läßt sich aus unserer Untersuchung

ableiten: nur Formaldehyd und Glutaraldehyd "fixieren" das typische feingewebliche Bild über die untersuchte Zeit hinweg. Betapropiolakton in 0,01%iger Lösung und die anderen Mittel (außer FA und GA) führen zu einem fortschreitenden Strukturabbau ab 3. bis 14. Tag, wobei dieser Vorgang bei Peressigsäure und 0,01%igem Betapropiolakton mit einem mäßiggradigen, bei Cialit mit einem geringen Eiweißausstrom verbunden ist. Alle diese Medien haben keinen wesentlichen Einfluß auf die physikalischen Eigenschaften der Haut. Die die Struktur "fixierenden" Mittel erhöhen die Zerreißfestigkeit etwas (GA) bis deutlich (FA). Glutaraldehyd verursacht außerdem eine Veränderung der Dehnbarkeit und einen (überraschenderweise) merklichen Eiweißverlust. Unter Berücksichtigung der geringen Relevanz der meisten von uns beobachteten physikalischen, chemischen und morphologischen Veränderungen sind alle diese Medien grundsätzlich zur Konservierung von Haut geeignet. Allein Betapropiolakton ist in den zur Gewebesterilisation üblichen Konzentrationen (1- bis 1,5%ig) - und auch in 0,1%iger Konzentration, wie wir in hier nicht näher wiedergegebenen "Vorversuchen" feststellen mußten - für die Hautkonservierung nicht zu gebrauchen.

5.2. CHEMISCHE KONSERVIERUNG UND IMMUNOGENITÄT DER HAUT

5.2.1. L y m p h k n o t e n r e a k t i o n

Nach Allotransplantation kommt es - als Ausdruck der sich entwickelnden Immunantwort - zu einer typischen Reaktion in

den regionalen Lymphknoten (Billingham und Mitarb. 1955, Scothorne und McGregor 1955). Das histologische Bild dieser "Transplantatreaktion" der Lymphknoten ist vor allem durch einen Anstieg der Zahl pyroninophiler Zellen charakterisiert. Diese Reaktion ist ab 2. bis 3. Tag post transplantationem zu erfassen (Burwell 1962, Fisher und Mitarb. 1973). Vom 4. bis 14. Tag ist dann eine Vergrößerung bzw. Gewichtszunahme der regionalen Lymphknoten festzustellen (Nagai 1968); diese sind am 8. Tag im Mittel bereits 3mal so schwer wie die entsprechenden kontralateralen (Nagai 1968).

Die Reaktion der regionalen Lymphknoten wurde zur differenzierenden Beurteilung der Antigenität avital konservierter Haut von Arzimowitsch und Scheina (1970) herangezogen. Diese Autoren fanden nach Transplantation gefriergetrockneter oder mit Äthanol (10- und 20%ig) bzw. Formaldehyd (1%ig) chemisch konservierter Haut eine Erhöhung des Lymphknotengewichtes, die mit derjenigen nach Überpflanzung vitaler Haut vergleichbar ist. Das Maximum der Lymphknotenvergrößerung wird nach Einsatz konservierter Haut allerdings erst einige Tage später erreicht als nach Transplantation von Frischhaut; der relative Gehalt an Blasten ist auch statistisch signifikant geringer.

Unsere Untersuchungen an Ratten und Mäusen bestätigen die sensibilisierende Wirkung gefriergetrockneter Haut und erweitern diese Erkenntnis auf 3 Wochen gefroren gelagerte Haut. Darüber hinaus erbrachten sie eine bei jeder geprüften chemischen Konservierungsmethode im Mittel stärkere Lympho-

knotenreaktion als bei first-set-Kontrollen. In den Rattenexperimenten war nach Sensibilisierung mit Formalinfixierter Haut, in den Experimenten an Mäusen nach Sensibilisierung mit Betapropiolakton- bzw. Merthiosal-konservierter Haut die relative Lymphknotenvergrößerung im Durchschnitt sogar stärker als bei den second-set-Kontrollen, wobei die Differenz zu den first-set-Kontrollen in den Mäuseversuchen sogar statistisch als überzufällig abzusichern war ($p < 0,05$).

5.2.2. Lymphozytotoxische Antikörper

Spätestens mit dem Auftreten morphologischer Veränderungen in der Milz, etwa 7 Tage nach Allotransplantation, ist mit der humoralen Immunantwort zu rechnen (Canty und Wunderlich 1971). Nach Transplantation allogener Haut wurden zirkulierende Antikörper bei Mäusen (Amos und Mitarb. 1954, Hildemann 1966, Sparks und Mitarb. 1970), Ratten (Ballantyne und Stetson 1964, Lie 1974), Kaninchen (McDonald und Mitarb. 1967, Nagai 1968, Terasaki und Mitarb. 1961), Hunden (Cohen und Kozaki 1969) sowie beim Menschen gefunden. Kausale Beziehungen zwischen dem Auftreten zytotoxischer Antikörper und der Transplantatzerstörung werden diskutiert, können aber nicht als bewiesen gelten. Oft waren Antikörper erst nach der kompletten Abstoßung zu erfassen. Sparks und Mitarb. (1970) wiesen bei Mäusen mittels Antiglobulintechnik Antikörper am 9. bis 10. Tag post transplantationem nach. Bei second-set

von Frischhaut sahen sie einen vorübergehenden Abfall des Antikörpertiters (Adsorption der Antikörper an das Transplantat ?) gefolgt von einem Anstieg der Antikörper mit einem Maximum nach der Rejektion. Aus diesen und anderen Befunden kann man schließen, daß an der second-set-Rejektion freie humorale Antikörper beteiligt sind.

Arzimowitsch und Scheina (1970) konnten nach Transplantation allogener Haut, die mittels Gefriertrocknung bzw. durch Einlegen in Äthanol oder Formaldehyd (nähere Angaben oben) konserviert worden war, Hämo- und Leukagglutinine sowie Zytotoxine nachweisen; eine eindeutige Beziehung zwischen Antikörpertiter und Vorbehandlung des Transplantates war jedoch nicht zu erkennen.

In unseren Versuchen mit Mäusen erfolgte die Prüfung auf zytotoxische Antikörper 11 bis 12 Tage nach Zweittransplantation vitaler Haut und etwa 3 bis 4 Tage nach deren kompletter Rejektion. Der Nachweis solcher Antikörper bei einem Drittel der Tiere der first-set-Kontrollen und der Hälfte der Tiere der second-set-Kontrollen ist Ausdruck der Beziehungen zwischen Allotransplantation und Bildung lymphozytotoxischer Antikörper sowie der Beziehungen zwischen Sensibilisierung und verstärkter Antikörperproduktion nach Zweittransplantation.

Wurde als Ersttransplantat konservierte Haut verwendet, dann ließen sich nach der Rejektion des vitalen Zweittransplantates gleicher genetischer Herkunft in keiner Versuchsgruppe

in einem gleich hohen Prozentsatz Antikörper nachweisen wie bei den second-set-Kontrollen. Unsere Versuche erbrachten somit keinen Hinweis auf eine sensibilisierende Wirkung konservierter, speziell auch chemisch konservierter Haut im Sinne einer verstärkten Induktion humoraler Antikörper. Dabei können wir für die Tatsache, daß die Bildung lymphozytotoxischer Antikörper zum Teil unter dem Wert der first-set-Kontrollgruppe ist, keine eindeutige Erklärung abgeben. Es wäre denkbar, daß sich die zirkulierenden Antikörper, die nach der Zweittransplantation gebildet wurden, komplett oder weitgehend an das in situ gebliebene primäre Implantat angelagert haben.

5.2.3. S e c o n d - s e t - R e a k t i o n

Die Überlebenszeit allogener Zweittransplantate (Zeit zwischen second set und Rejektion im Vergleich zur Abstoßungszeit von Ersttransplantaten) ist ein wichtiger Indikator für eine Sensibilisierung (durch ein Ersttransplantat vom selben Spender bzw. Spenderstamm). Einschlägige Experimente mit homostatisch konservierter Haut haben zu scheinbar widersprüchlichen Ergebnissen geführt: Arzimowitsch und Scheina (1970) beobachteten sowohl nach first set von gefriergetrockneter als auch nach Sensibilisierung mit chemisch konservierter Haut (s.o.) eine Beschleunigung der Rejektion von Zweittransplantaten. Abbott und Pappas (1970) fanden hingegen nach vorheriger Überpflanzung gefriergetrockneter Haut und Zweittrans-

plantation vitaler Haut eine praktisch identische Überlebenszeit mit den in first-set-Kontrollen erzielten (9,8 ± 0,6 Tage). Diese Befunde stimmen mit unseren Beobachtungen exakt überein (Überlebenszeit nach Sensibilisierung mit gefriergetrockneter Haut bei Mäusen 9,2 ± 0,25, bei Ratten 10,5 ± 0,14 Tage, nach Sensibilisierung mit tieftemperaturgelagerter Haut bei Mäusen 9,0 ± 0,19, bei Ratten 10,4 ± 0,08 Tage). Steinmüller (1964) konnte selbst nach Vorbehandlung mit zellreichem gefriergetrockneten Milz- oder Nierengewebe keine Veränderung des Verhaltens von Testhauttransplantaten gegenüber dem bei nicht immunisierten Kontrollen erkennen.

Nach Transplantation chemisch konservierter Haut fanden wir bei Ratten und bei Mäusen unabhängig von der Konservierungsmethode im Vergleich zu den first-set-Kontrollen eine geringe beschleunigte Rejektion der Zweittransplantate, wobei die Differenzen untereinander in keinem Fall statistisch abzusichern waren. Für die mit Formaldehyd-konserviertem Material sensibilisierte Gruppe war in den Mausexperimenten die Differenz zur Abstoßungszeit von Ersttransplantaten allerdings statistisch signifikant. In dieser Gruppe erhielten wir mit 37,5 % auch den höchsten Prozentsatz an Tieren, die lymphozytotoxische Antikörper bildeten. Unsere Beobachtungen stimmen hier wieder mit den Befunden von Arzimowitsch und Scheina (1970) überein, die innerhalb ihrer Versuchsanordnung ebenfalls nach Transplantation von in Formaldehyd (1%ig) konservierter Haut die höchste Sensibilisierungsrate erzielten. Es wäre denkbar, daß die Formaldehydbehandlung frischer Gewebe

die zellmembranständigen Histokompatibilitätsantigene wenigstens teilweise so fixiert, daß sie ihre Immunogenität behalten.

Insgesamt kann festgestellt werden, daß mit Ausnahme der Formaldehydlagerung keines der geprüften chemischen Konservierungsverfahren die Überlebenszeit von vitalen Zweittransplantaten wesentlich verkürzt, was dafür spricht, daß diese Methoden (ähnlich den physikalischen) zu einer deutlichen Herabsetzung derArtigenität führen. Die Verwendung von in Formaldehyd konservierter Haut als "biologisches Verbandsmaterial" bei großflächigen Verbrennungen ist trotz der vergleichsweise höheren Immunogenität deshalb nicht grundsätzlich auszuschließen, weil bei derart thermisch Geschädigten eine über lange Zeit stark verminderte bis aufgehobene immunologische Reaktivität vorliegt.

5.3. CHEMISCHE KONSERVIERUNG UND STERILITÄT DER HAUT

Eine wesentliche Aufgabenstellung für die dieser Arbeit zugrundeliegenden Untersuchungen bestand darin, solche Stoffe zu untersuchen, von denen erwartet werden konnte, daß sie konservierende Eigenschaften mit ausreichenden keimwidrigen verbinden. Es galt also, ein Verfahren herauszuarbeiten, bei dem "das präservierende Agens selbst bakteriostatische bis bakterizide Wirkungen entfaltet" (Gruppe 4 der chemischen Entkeimungsverfahren für Gewebekonserven nach

Hackensellner 1973). In diesem Sinne werden seit langem Formaldehyd, Merthiosal und Cialit, in den letzten Jahren auch zunehmend Glutaraldehyd (Literatur s. unter 2.1.1.) als Konservierungsmedien verwendet. Keine Hinweise fanden wir für einen entsprechenden Einsatz von Betapropiolakton und Peressigsäure.

Richter und Palkoska (1969), die als Transplantationsmaterial vorgesehene Haut für 6 bis 48 Stunden in 4%ige Formaldehydlösung einlegten und sie dann in steriler isotoner Kochsalzlösung bis zur Verwendung (Monate!) aufbewahrten, weisen darauf hin, daß die relativ kurze Kontaktzeit zwischen Haut und wirksamem Agens zu einer ausreichenden "Biostase" führt, also trotz Umlagerung der Haut in eine formaldehydfreie Lösung "konserviert", und daß dieser Kontakt auch eine Keimfreiheit der Transplantate garantiert. Seiffert und Mitarb. (1968) haben in ihre vergleichenden Transplantationsexperimente an Mäusen, Ratten und Kaninchen auch in 0,02%igem Cialit über Wochen gelagerte Haut einbezogen; Angaben über Sterilitätsuntersuchungen fehlen allerdings. In der den experimentellen (Hunde) und klinischen Erfahrungen mit Merthiosalhaut gewidmeten Arbeit von Juzbašić und Prpić (1967) wird hingegen ausdrücklich darauf hingewiesen, daß sich Proben der alle 3 bis 4 Wochen in neue Konservierungslösung (Merthiosal 0,1%ig) umgesetzten Präparate stets als steril erwiesen. Bei Santiago-Delpin und Mitarb. (1972) sowie bei Im und Simmons (1972), die in Tierexperimenten speziell die Beein-

flussung der Antigenität der Haut durch Glutaraldehyd in niedrigen, weit unter den zur Kaltsterilisation gebräuchlichen Konzentrationen untersuchten, gehen auf die bioziden Eigenschaften von Glutaraldehyd gar nicht ein.

Die Ergebnisse unserer eigenen Untersuchungen sind scheinbar widersprüchlich: so ergaben die Versuchsreihen, bei denen die Sterilitätskontrollen in einem bakteriologischen Routinelaboratorium durchgeführt wurden, für Rattenhaut nur nach Behandlung mit Formaldehyd und Glutaraldehyd, für menschliche Haut sogar nur bei Lagerung der Haut in Formaldehyd bei 22 °C in 100 % Sterilität. Die gezielten speziellen Untersuchungen am Institut für Medizinische und Allgemeine Mikrobiologie Virologie und Epidemiologie der Humboldt-Universität (Direktor Prof. Schabinski) zeitigten hingegen für Peressigsäure-1,0%, Peressigsäure-0,1%, Betapropiolakton-0,01%, Formaldehyd und Glutaraldehyd eine offensichtlich ausreichende Keimwidrigkeit. Uns ist klar, daß die geringe Probenzahl keine definitiven Schlüsse zuläßt und daß vor dem klinischen Großeinsatz chemisch konservierter Haut die Frage der Sicherung der Sterilität durch das konservierende Mittel noch eingehender und in größeren Versuchsreihen untersucht werden muß. Wir meinen jedoch unsere Befunde so deuten zu können, daß eine Lagerung in Merthiosal oder Cialit in den angewandten Konzentrationen Keimfreiheit der (primär stark verkeimten) Haut nicht garantiert. Peressigsäure-1,0%, Formaldehyd und Glutaraldehyd, möglicherweise auch Peressigsäure 0,1% und Betapropiolakton 0,01% dürften hingegen für unsere Zwecke ausreichend biozid sein, was allerdings noch zu überprüfen wäre.

5.4. VERBRENNUNGEN UND TRANSPLANTATION CHEMISCH KONSERVIERTER HAUT

Bei der Behandlung schwerer (drittgradiger) und großflächiger Verbrennungen hat sich die Nekrektomie, gefolgt von einer primären Deckung der Wundflächen durch Transplantate bewährt. Da Eigenhaut in der Regel nicht in ausreichender Menge zur Verfügung steht, wird vitale (frisch gewonnene Spender- oder Leichenhaut bzw. vital konservierte Leichenhaut) oder avitale (avital konservierte) allo- oder xenogene Haut als Deckmaterial herangezogen. Die Fremdhaut funktioniert dabei im Sinne eines biologischen Wundverbandes (Anderl und Mitarb. 1974, Artz und Mitarb. 1955, Batchelor und Hackett 1970, Köhnlein 1965 u. 1970, Koslowski 1969, Seiffert 1970, Seiffert und Mitarb. 1968, Zellner und Mitarb. 1975).

Zum klinischen Einsatz chemisch konservierter Haut im Rahmen der Verbrennungsbehandlung fanden wir keine Literaturhinweise. Mit der Zielstellung einer möglichen Anwendung in der Therapie thermisch Geschädigter haben jedoch Seiffert und Mitarb. (1968) ausgedehnte experimentelle Untersuchungen durchgeführt, die hier ausgewertet seien: Die Autoren untersuchten die Eignung verschieden konservierter allogener und xenogener Haut als "biologischer Wundverband" für operativ gesetzte Hautdefekte bei Mäusen und Kaninchen, wobei die xenogenen Transplantate jeweils von Ratten stammten. Als Vergleich dienten allogene und xenogene Frischhaut, bei den Mäusen

außerdem vitale Eigenhaut und bei den Kaninchen zusätzlich Zweischichtkollagenfolien und Polyvinylschwamm. An Konservierungsmethoden wurden neben Tiefkühllagerung (-26 °C) und Gefriertrocknung zum Teil auch Alkohol(70%)- und Formaldehyd(3%)-Lagerung (Allotransplantation bei Mäusen), in allen Fällen (bei Mäusen und Kaninchen, Allo- und Xenotransplantation) auch Aufbewahrung in Cialit (0,02%ig) herangezogen. Die Konservierungsdauer lag jeweils bei 3 bis 4 Wochen. Hinsichtlich Heilung und Haftdauer erwiesen sich allogene Transplantate gegenüber xenogenen (von der Ratte) überlegen. Ungünstig war das Ergebnis nach Wunddeckung mit Kollagenfolie und Polyvinylschwamm. Als am besten -neben vitaler Eigenhaut- werden tiefkühlgelagerte und gefriergetrocknete Allotransplantate hervorgehoben.

Aus unseren eigenen experimentellen Untersuchungen an Mäusen läßt sich schlußfolgern, daß primäre Nekrektomie und Deckung der Wundfläche mit Frischhaut oder konservierter (auch chemisch konservierter) Haut die Überlebenschance der thermisch schwer geschädigten Tiere im Vergleich zu unbehandelten Tieren grundsätzlich erhöht. Sichere Differenzen ließen sich zwischen den unterschiedlichen Deckmaterialien nicht erheben. Immerhin sei vermerkt, daß in der mit Glutaraldehyd-konservierter Haut behandelten Gruppe nicht nur kein Tier verstarb, sondern darüber hinaus auch die schnellste Wundheilung zu verzeichnen war (Wundheilungszeit 18,5 Tage gegenüber 20 Tagen und mehr). In dieser Gruppe fand sich übrigens auch die längste durchschnitt-

liche Haftdauer der Transplantate (13,8 Tage gegenüber 9,7 bis 11,1 Tagen). Wir meinen, daß diese Beobachtungen dazu anregen sollten, sich mit der Glutaraldehydkonservierung weiter zu beschäftigen.

Übrigens sprechen die Ergebnisse experimenteller Untersuchungen von Im und Simmons (1972) sowie Santiago-Delpin und Mitarb. (1972) dafür, daß Glutaraldehyd selbst in niedrigen Konzentrationen (Im und Simmons 0,01 bis 0,1%; Santiago-Delpin und Mitarb. 0,28%) die Widerstandsfähigkeit gegenüber Zerstörung ("Abstoßung) und die Haltbarkeit transplantierter Haut entscheidend erhöht, was die Autoren auf eine durch das Glutaraldehyd bewirkte Veränderung der Antigenität zurückführen. Zwischen den von uns beobachteten therapeutischen Effekten bei der Verbrennungsbehandlung von Mäusen und den von Im und Simmons (1972) bzw. Santiago-Delpin und Mitarb. (1972) ebenfalls an Mäusen erarbeiteten Erkenntnissen einerseits wie der Lymphknotenreaktion und den Ergebnissen der Lymphozytotoxtests in unseren Verbrennungsversuchen anderseits ist keine klare Korrelation festzustellen. Die Lymphknotenreaktion, die in der Glutaraldehydgruppe am stärksten war (LI 2,8 gegenüber sonst 1,6 bis 2,7) mag als "zufällig" hingenommen werden. Schwerer fällt es, gleiches auch für den gerade in dieser Versuchsgruppe höchsten Prozentsatz an lymphozytotoxischen Antikörpern - nach 14 Tagen bei 38 % der Tiere (gegenüber 33 % in der MF-Gruppe), nach 3 Wochen noch in 13 % (gegenüber negativen Befunden in allen anderen Versuchsgruppen) - anzunehmen. Wir können hier nur auf dieses "Über-

raschende" Ergebnis aufmerksam machen und müssen die Klärung der damit aufgeworfenen Fragen weiteren Untersuchungen überlassen.

Trotz intensiver Bemühungen unserseits war es uns nicht möglich, die experimentellen Ergebnisse in der Klinik der Verbrennungsbehandlung zu überprüfen. Die Überprüfung der von uns untersuchten chemischen Konservierungsmethoden erfolgte deshalb bei Ulcus-cruris-Kranken (s. 5.5.).

5.5. ULCERA CRURIS UND TRANSPLANTATION CHEMISCH KONSERVIERTER HAUT

Den varikösen Symptomenkomplex mit "offenen Beinen" kann man als "Volkskrankheit" (Dietz 1963, Hohensee 1962) bezeichnen. Die Häufigkeit dieser Erkrankung schätzt Maerz (zit. nach Dietz 1963) auf 1 bis 2 % der Gesamtbevölkerung. Neben den verschiedenen klassischen konservativen und chirurgischen Methoden der Behandlung des Ulcus cruris hat sich in den letzten 20 Jahren in ausgewählten "behandlungsresistenten" Fällen auch die Geschwürversorgung durch Hauttransplantate bewährt (Dietz 1963, Hohensee 1962, Wiedmann 1961), wozu bisher offensichtlich ausschließlich Eigenhaut verwendet wurde. Als wichtige Voraussetzung für einen Erfolg erwies sich dabei eine vorherige Beseitigung der Stauungserscheinungen und eine Besserung bis Behebung der Durchblutungsstörungen (s. bei Wiedmann 1961). - Wir fanden keine Hinweise auf die

Transplantation von vitaler oder, was für uns besonders interessant gewesen wäre, von avital konservierter Fremdhaut.

Die eigenen Untersuchungen zeigen ganz allgemein den günstigen Einfluß der Deckung der Geschwüre mit avitaler, chemisch konservierter Haut. Dabei ist beachtenswert, daß immerhin bei zwei Patienten die so behandelten, über 1,5 bzw. 3 Jahre therapieresistenten Ulcera cruris schnell abheilten. Beim Vergleich der verschiedenen Konservierungsmethoden schneidet Betapropiolakton und Cialit schlecht ab. Der Einfluß von Formaldehyd, Merthiosal und Glutaraldehyd konnte in 7 von 10 Fällen, der von Peressigsäure in 8 von 10 Fällen als günstig eingeschätzt werden. Selbstverständlich bedürfen auch diese Befunde einer breiteren Überprüfung.

5.6. SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die experimentellen Untersuchungen zur chemischen Konservierung von Haut und zur Behandlung von Verbrennungen durch Transplantation chemisch konservierter Haut sowie die klinische Überprüfung über 3 Wochen konservierter Präparate lassen die nachstehenden Schlußfolgerungen zu:

1. Peressigsäure, Betapropiolakton-0,01%ig, Formaldehyd, Cialit, Merthiosal und Glutaraldehyd gestatten grundsätzlich bei Zimmertemperatur eine Lagerung über 90 Tage; dabei ist für Formaldehyd überhaupt keine, für Glutaraldehyd nur eine

vergleichsweise geringe (Eiweißverlust) Veränderung im Sinne einer "Degradation" nachzuweisen. Betapropiolakton in 1,0- oder 0,1%iger Konzentration ist zur Hautkonservierung ungeeignet.

2. Die konservierte Haut ist unabhängig vom Konservierungsmedium als immunogen anzusehen. Die im second-set-Modell geprüfte Immunogenität ist jedoch gegenüber Fremdhaut deutlich herabgesetzt.

3. Alle Medien zeigten entsprechend unseren Erwartungen eine antibakterielle Wirksamkeit; diese ist vor allem bei Formaldehyd und Glutaraldehyd, möglicherweise aber auch bei Peressigsäure-1,0%ig und -0,1%ig und Betapropiolakton-0,01%ig als ausreichend anzusehen.

4. Die Transplantation chemisch konservierter Haut nach früher Nekrektomie erhöht die Überlebensaussichten bei schweren Verbrennungen und begünstigt die Wundheilung. In der mit Glutaraldehyd-Haut behandelten Gruppe überlebten alle Tiere und es war dort auch die schnellste Wundheilung zu beobachten.

5. Auch auf therapieresistente Ulcera cruris hatte die Transplantation chemisch konservierter Haut einen günstigen Einfluß; das gilt vor allem für Haut, die in Peressigsäure, Formaldehyd, Merthiosal oder Glutaraldehyd konserviert worden war.

Wir meinen, daß der Einsatz von mit Peressigsäure-1,0%ig, Formaldehyd-4%ig und Glutaraldehyd-2,0%ig konservierter allo-

gener Haut - selbstverständlich unter strenger Kontrolle auf Sterilität der Präparate - bei der Behandlung schwerer Verbrennungen vertretbar ist. Die anderen von uns getesteten Verfahren bedürfen vor ihrer klinischen Anwendung noch einer weiteren experimentellen Prüfung.

6. Z U S A M M E N F A S S U N G

Die Aufgabenstellung lag in der Entwicklung und Überprüfung chemischer Methoden der Hautkonservierung und zwar solcher Methoden, die ohne wesentlichem technischen Aufwand durchführbar in Katastrophen- oder Verteidigungssituationen mit hohem Anfall thermisch Geschädigter Gewinnung, Lagerung und Transport der konservierten Präparate sowie deren Einsatz bei der Behandlung schwer Verbrannter, speziell als "biologisches Verbandmaterial" nach primärer Nekrektomie gestatten.

Als konservierende und gleichzeitig keimwidrige Medien wurden wäßrige Lösungen von Peressigsäure (0,1- und z.T. 1,0%ig), Betapropiolakton (1,0- und 0,01%ig), Formaldehyd (4,0%ig), Cialit (0,02%ig), Merthiosal (0,1%ig) und Glutaraldehyd (2,0%ig) geprüft. Bei einem Teil der Versuche wurde neben anderen Kontrollen auch durch Gefriertrocknung und durch Tieftemperaturlagerung konservierte Haut zum Vergleich herangezogen.

Untersucht wurden physikalische Veränderungen (Zerreißfestigkeit und Dehnbarkeit) an Wistarrattenhaut, chemische Veränderungen (Eiweißverlust in die Konservierungslösung) an Wistarrattenhaut und menschlicher Haut, morphologische Veränderungen (Paraffinschnitte, diachromiert mit Hämalaun und Eosin; Gefrierschnitte, fluorochromiert mit Akridinorange)

an Histarrattenhaut - jeweils über eine Lagerungsperiode (Konservierungszeit) von 1 Tag bis zu 21 Tagen (menschliche Haut) bzw. 90 Tagen (Rattenhaut). Zum Versuchsende wurden sowohl Rattenhaut als auch menschliche Haut und in einer zusätzlichen speziellen Serie (Ebenfalls auch nach 21 Tagen) nochmals menschliche Haut auf Sterilität geprüft. Zur Bestimmung von Veränderungen der Immunogenität durch die Konservierung wurde BDIX-Ratten konservierte Haut von Histarratten und B10LP-Mäusen konservierte Haut von A-Mäusen in eine subkutane Hauttasche implantiert, nach 3 Wochen vom Erstspender stammende vitale Haut in einen operativ gesetzten Hautdefekt transplantiert (second-set), die Abstoßung dieses Zweittransplantates zeitlich bestimmt sowie zwei Wochen nach dem second-set die Tiere getötet, das Gewicht der regionären (axillären) und nicht-regionärer (inguinaler) Lymphknoten bestimmt und zueinander in Beziehung gebracht; bei den Mäusen wurde zwischen dem 11. bis 12. Tag nach der Zweittransplantation Serum gewonnen und auf lymphozytotoxische Antikörper recherchiert. In einer weiteren Versuchsserie wurden bei B10LP-Mäusen schwere Verbrennungen gesetzt, nach einem Tag die Nekrosen entfernt und die Wunden mit unterschiedlich konservierter Haut von B17-Mäusen bedeckt. Schließlich wurden, in Ermangelung der Möglichkeit klinische Versuche bei ausgedehnten Verbrennungen durchzuführen, entsprechend konservierte menschliche Hautproben bei der Behandlung von Ulcera cruris getestet.

Es zeigte sich, daß Betapropiolakton in 1,0- und selbst in

0,1%iger Konzentration zur Hautkonservierung nicht geeignet ist, da es die Haut völlig zerstört. Außer Formaldehyd und mit Einschränkung Glutaraldehyd führen auch alle anderen geprüften Mittel zu einer allmählichen physikalischen, chemischen und/oder morphologischen Degradation, was jedoch deren partielle Eignung zur Konservierung nicht ausschließt. Peressigsäure-1,0- und 0,1%ig, Betapropiolakton-0,01%ig sowie vor allem Formaldehyd und Glutaraldehyd (nicht jedoch Cialit und Merthiosal!) erwiesen sich als ausreichend keimwidrig, um Sterilität zu sichern. Alle geprüften chemischen Konservierungsverfahren führen zu einer wesentlichen Herabsetzung der Immunogenität der Haut. Die Transplantation solcher Haut wirkt sich ganz allgemein auf die Behandlung experimentell gesetzter Verbrennungen günstig aus, sowohl im Bezug auf die Überlebenschancen der Tiere als auch bezüglich der Wundheilungszeit; besonders eindrucksvoll zeigte sich das in der Glutaraldehyd-Gruppe. Bei der Behandlung von Ulcera cruris durch chemisch konservierte "Transplantate" konnte für Peressigsäure-, Formaldehyd-, Merthiosal- und Glutaraldehyd-Haut in 70 bis 80 % ein positiver Einfluß auf das Geschwür festgestellt werden; bei 2 der insgesamt 10 Patienten kam es 14 bzw. 16 Tage nach der Wundabdeckung mit den konservierten Hautproben zu einer Heilung (vollen Reepithelisierung).

Eine Konservierung durch Einlegen von Haut in keimwidrige chemische Medien und Lagerung solcher Präparate bei Zimmertemperatur über 3 Wochen (ja bis 90 Tage) ist grundsätzlich möglich. Nach den Ergebnissen unserer physikalischen, chemi-

schen, morphologischen, immunologischen und bakteriologischen Untersuchungen sowie den Ergebnissen der Prüfung chemisch konservierter Allotransplantate bei der Behandlung von schweren Verbrennungen (Tierexperiment) und der Behandlung von Ulcera cruris halten wir die Konservierung von Haut in 0,1%iger Peressigsäure, in 4,0%igem Formaldehyd und in 2,0%igem Glutaraldehyd mit der Zielstellung des Einsatzes der Präparate bei der Therapie ausgedehnter schwerer thermischer Schädigungen für geeignet. Besonders empfehlen möchten wir die Konservierung in Glutaraldehyd.

7. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Abbott, W.E., and A.E.Pappas:
Comparative studies on fresh and preserved skin: Fundamental biologic differences in behavior as grafts;
Ann. Surg. 172, (1970) 181 - 186

2. Allgöwer, M.:
Schock;
In: Hellner-Nissen-Voßschulte, Lehrbuch der Chirurgie, 5. Aufl., Georg Thieme, Stuttgart 1967

3. Allgöwer, M., G.Blocker, and E.W.D.Engley:
Viability of skin in relation to varius methods of storage;
Tex.Rep.Biol.Med. 10 (1952) 3 - 21

4. Amos, B.D., F.A.Dörer, B.E.Nikulska, R.E.Billingham, and E.M. Speroir:
An antibody response to skin homografts in mice;
Brit. J. Exp. Path. 35 (1954) 203 - 208

5. Anderl, H., M.Bauer und J.Ioannovich:
Erfahrungen mit der tangentialen Frühexzision dermaler Verbrennungen;
Pädiat.Prax. 14 (1974) 305 - 322

6. Andina, P.:
Die freie Hauttransplantation;
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1970

7. Artz, C.P., J.M.Becker, Y.Sako, and A.W.Bronwell:
Postmortem skin homografts in the treatment of extensive burns;
Arch.Surg. 71 (1955) 682 - 687

8. Arzimowitsch, N.G. und E.F.Scheina:
Immunomorphologische Reaktionen bei Homotransplantation konservierter Haut;
Dokl.Akad.Nauk.SSSR 195 (1970) 472 - 474, russisch

9. Babik:
Die Verwendung von Choriotransplantaten;
Vortrag, Arbeitstagung der Arbeitsgemeinschaft "Thermische und kombinierte Schäden" der Gesellschaft für Chirurgie der DDR, 17. bis 18.10.1975 in Rostock

10. Ballantyne, D.L., jr., and C.A.Stetson jr.:
Serologic reaction to skin homografts of various sizes in the rat;
Ann. N.Y. Acad.Sci. 120 (1964) 7 -14

11. Bashinow, A.G. und N.N.Larmorskij:
Sterilisation von Homotransplantaten mittels Betapropiolakton;
Chirurgija 37 (1961) H.8, 130 - 133, russisch

12. Batchelor, J.R., and W.Hackett:
HL-A matching in treatment of burned patients with skin allografts;
Lancet 1970/II, 581 - 583

13. Běhounková, E.:
Histologic examination of skin grafts stored at +4 °C;
Act.chir.plast. (Praha) 13 (1971) 128 - 132

14, Berger, Reisal und Rillesi:
Frühexzision umschriebener drittgradiger Verbrennungen mit primärer Hautdeckung;
Vortrag, Arbeitstagung der Arbeitsgemeinschaft "Thermische und kombinierte Schäden" der Gesellschaft für Chirurgie der DDR, 17. bis 18.10. 1975 in Rostock

15. Beragran, R.B., and H.B.Lehr:
Clinical use of viable frozen human skin;
J.amer.med.Assoc. 154 (1965) 149 - 151

16. Billingham, R.E., L.Brent, and P.B.Medawar:
Quantitative studies on tissue transplantation immunity. II. The origin, strength and duration of actively and adoptively acquired immunity;
Proc.Roy.Soc., London, Ser. B 143 (1955) 58 - 80

17. Birkhaug, K.E.:
Phenyl-mercuric nitrate;
J.infect.Dis. 53 (1933) 250 - 261

18. Borick, P.M., F.K.Bordershine, and V.L.Chandler:
Alkalinized glutaraldehyde, a new antimicrobial agent;
J.pharm.Sci. 53 (1964) 1273 - 1275

19. Bornemisza, E.:
Theoretische Probleme der Gewebekonservierung;
In: Kettler-Gerfling, Gewebekonserven-Herstellung und Anwendung, II, VEB Volk und Gesundheit, Berlin 1965, S. 295 - 307

20. Braun, A.A. und I.A.Abdyldajew:
Überleben von in schwachen Formalinlösungen konservierter Haut;
Bjull.eksp.biol.Med. 62 (1966) H.10, 109 - 111, russisch

21. Brodskij, A.F.:
Konservierung und Homotransplantation von Geweben;
Sdorowja, Kiew 1965, russisch

22. Buchan, A.C.:
Experimental studies on the storage of skin: The viability of human skin stored above freezing point;
Brit.J.plast.Surg. 11 (1958) 206 - 226

23. Budrass, W.:
Verpflanzung konservierter Haut;
In: Kettler-Gerfling, Gewebekonserven-Herstellung und Anwendung, II, VEB Volk und Gesundheit, Berlin 1965, S. 199 - 201

24. Burwell, R.G.:
Studies of the primary and the secondary immune responses of lymph nodes draining homografts of fresh cancellous bone (with particular reference to mechanisms of lymph node reactivity);
Ann. N.Y. Acad.Sci. 99 (1962) 821 - 860

34. Erichleb, M., V.Měrka und D.Gruber:
Metallsalze und metallorganische Verbindungen;
In: Horn-Křivora-Teuffel, Handbuch der Desinfektion und Sterilisation, Band I, Grundlagen der Desinfektion, VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1972, S. 178 - 208

35. Es, A.A., van:
Skin preservation;
RIL (Radiobiol.Inst. TNO; Inst. for Exp.Gerontol. TNO; Primate Center TNO) Ann.Rep. 1972, 128 - 130

36. Fedotenkow, A.I., L.A.Danilowa, N.A.Nefedowa, L.N.Scalawina und L.W.Sacharowa:
Konservierung von Leichenhaut in lebensfähigem Zustand mittels niedriger Temperaturen;
In: Kettler-Gerlich, Gewebekonserven - Herstellung und Anwendung II, VEB Verlag Volk und Gesundheit Berlin 1965, S. 396 - 400

37. Fejgelman, S.I., A.S.Laptschinskij und N.L.Soin:
Erhaltung der Lebensfähigkeit von formalinbehandelter Haut;
Bjull. eksper. Biol.Med. 73 (1972) H.5, 108 - 110, russisch

38. Fisher, E.R., B.Fisher, and B.Fisher:
Studies concerning the regional lymph node in cancer. V. Histologic and ultrastructural findings in regional and non-regional nodes;
Lab. Invest. 28 (1973) 126 - 133

39. Gresham, G.A., V.P.Perry, and T.H.Wheeler:
US Navy Tissue Bank. Report on current method and experimental approaches to the future;
J.amer.med. Assoc. 183 (1963) 13 - 19

40. Hackenseliner, H.A.:
Zur Problematik der Zell- und Gewebekonservierung;
Zbl. Chir. 92 (1967) 1126 - 1132

41. Hackenseliner, H.A.:
Zell-, Gewebe- und Organkonservierung (-präservierung);
In: Horn-Pivora-Peuffer, Handbuch der Desinfektion und Sterilisation, Band II, Grundlagen der Sterilisation, VEB Verlag Volk und Gesundheit Berlin 1973, S. 317 - 331

42. Hackenseliner, H.A.:
Leichenhautkonserven, Herstellungstechnik, Lieferkapazität, Versorgungslage in der DDR;
Vortrag, IV. Unfallchirurgenkongreß der DDR, 5. bis 7.12.1973, Leipzig

43. Hackenseliner, H.A. und Tran thi Thu-Ha:
Experimentelle Untersuchungen zur chemischen Konservierung von Haut;
Vortrag, Arbeitstagung der Arbeitsgemeinschaft "Thermische und kombinierte Schäden" der Gesellschaft für Chirurgie der DDR, 17. bis 18.12.1975 in Rostock

44. Hartman, F.W. und C.A.LoBrippo:
Betapropiolactone in sterilization of vaccines, tissue grafts, and plasma;
J.amer.med.Assoc. 164 (1957) 255 - 263

45. Hauberg, G. und E.Bruckschen:
Über eine einfache Methode der Knochenkonservierung;
Chirurg 6 (1934) 249 - 252

46. Hemann, H.:
Formaldehyd;
In: Horn-Pivora-Peuffer, Handbuch der Desinfektion und Strilisation, Band II, Grundlagen der Desinfektion, VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1972, S. 251 - 279

47. Herzog, H.H.:
Sehnenkonservierung und -transplantation;
VEB Gustav Fischer, Jena 1963

48. Hildemann, W.H., and W. Pinkerton:
Alloantibody production measured by plaque assay in relation to strong and weak histocompatility;
J.exp.Med. 124 (1966) 885 - 889

49. Hohensee, G:
Das Ulcus cruris varicosum - Untersuchungen an Kranken aus dem Rudolf-Virchow-Krankenhause;
Z.Haut-Geschl.Krkh. 32 (1962) 93 - 116

50. Horn, H. und H.Künzel:
Zur Kaltsterilisation durch Betapropiolakton;
Z.ges.Hyg. 11 (1965) 739 - 748

51. Husmann, K.-H.:
Über die antimikrobiellen Eigenschaften von Betapropiolakton;
Desinfektion u.Gesdh.wesen 52 (1960) 101 - 105

52. Im, H.M., and R.L.Simmons:
Mechanism for the prolonged survival of glutaraldehyde treated skin allografts;
Transplantation 14 (1972) 527 - 530

53. Juzbašić, D. und I. Prpić:
Der konservierte Cutislappen und seine klinische Anwendung - Die Cutisbank;
Chirurg 38 (1967) 264 - 267

54. Kelly, A.B., F.W.Hartman, an W.A.LoGrippo:
Preparation and sterilization of blood plasma;
Am. J.clin.Path. 24 (1954) 338 - 348

55. Kelly, A.B., F.W.Hartman, and C.E.Rupe:
The toxicology of BPL;
In:Hartman-LoGrippo-Bateer-Burron, Hepatitis frontiers, Boston 1957

56. Khoi, N.: persönliche Mitteilung, Vietnam 1971

57. Kiene, Nesver, Schill und Siegel:
Xenogene Hauthomserve als biologischer Verband;
Vortrag, IV. Unfallchirurgenkongreß der DDR.
5. bis 7.10.1973, Leipzig

58. Kiene, Schill, Roewer, Frick:
Biologische Verbandstoffe (lyophilisierte Schweinespalthautkonserve);
Vortrag, Arbeitstagung der Arbeitsgemeinschaft "Thermische und kombinierte Schäden" der Gesellschaft für Chirurgie der DDR. 17. bis 18.12.1975 in Rostock

59. Klen, R.:
Research Report 1952 - 1970 of the Tissue Bank;
Fol.biol. (Praha) 17 (1971) 348 - 352

60. Köhnlein, H.E.:
Die Möglichkeiten der Homoio-, Hetero- und Allotransplantation bei der Behandlung der Schwerstverbrannten;
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1965

61. Köhnlein, H.E.:
Hauttransplantation und Hautersatz;
Langenbecks Arch.Chir. 327 (1970) 1090 - 1106

62. Koslowski, L.:
Verbrennungen und ihre Behandlung;
Medizin.Welt 1963, 1263 - 1269

63. Kline, I.B. und R.N.Hull:
The virucidal properties of peracetic acid;
Amer.J.clin.Path. 33 (1960) 30 - 33

64. Krause, F.:
Über die Transplantation großer ungestielter Hautlappen;
Chir.Kongr.Verhandl. 2 (1893) 46 - 56

65. Künzel, W.:
Betapropiolakton;
In: Horn-Pfivera-Neuffen, Handbuch der Desinfektion und Sterilisation, Band II, Grundlagen der Sterilisation, VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1973, S. 216 - 237

66. Künzel, W., U.Friedigheit und Ch.Leibner:
Versuche zur Sterilisation von Herz-Kreislauf-Kathetern mit β-propiolacton;
Arch.Hyg. 152 (1968) 195 - 201

67. Künzel, W., W.D.Jacobi und E.Killguth:
Über Sterilisationsversuche mit gasförmigem BPL;
Wiss.Z.Humboldt-Univ.Berlin, Math.Nat.Reihe 18, (1969) 1003 - 1006

68. Lehr, H.B., J.B.Berggren, F.A.Lothe, and I.L.Worrisl:
Permanent survival of preserved skin autografts;
Surgery 56 (1964) 742 - 746

69. Lerch, H.:
Die Konservierung von Kalbsknochen in Cialit und Thiocid;
Chirurg 1 (1937) 309 - 311

70. Lie, T.S., K.Ebata, F.Fueting, H.Nakano und T.Z.Kim:
Die humorale Immunantwort bei der Haut- und Nierenallotransplantation in histoinkompatiblen Inzuchtratten;
Langenbecks Arch. 336 (1974) 257 - 267

71. LeGrippe, G.A., I.H.Overhulse, D.E.Zsilagyi, and F.V.Hartman:
Procedure for sterilization of arterial homografts with beta-propiolactone;
Lab.Invest. 4 (1955) 217 - 231

72. Luy, D.T.: persönliche Mitteilung, Vietnam 1971

73. Mc Donald, J.C., and L.W.Jacobbi:
Serum antibody response of cortisone trated rabbits to skin silografts: Serodiagnosis of allograft;
Transplantation 5 (1967) 51 - 59

74. Medawar, P.B.:
Homografts and Agammaglobulinemia;
Transpl. Bull. 2 (1955) 86 - 92

75. Bjelnikowa, W.K., G.P.Bjelikow und W.A.Pockolein:
Verwendung von Betapropiolakton für die Sterilisation verschiedener Gewebetransplantate;
Orthop.traumatol.protes. 25 (1964) 33 - 36, russisch

76. Mortensen, J.D., L.A.Weed, and J.H.Grindlay:
Maintaining sterility during storage of arterial homografts;
J.Labor.clin.Med. 44 (1954) 604 - 608

77. Mücke, H. und M. Sprössig:
Die Eigenschaften der Peressigsäure;
Wiss.Z.Humboldt-Univ. Berlin, Math.Nat.Reihe 18 (1969) 1167 - 1170

78. Mücke, H., M.Sprössig und D.Metzel:
Untersuchungen zur bakteriziden und sporiziden Wirkung von Glutaraldehyden;
Hygiene 7 (1972) 524 - 526

79. Müller, F.E.:
Hautplastiken in der Wiederherstellungschirurgie nach Verbrennungen;
Chirurg. 41 (1970 398 - 402

80. Müller, R.:
Medizinische Mikrobiologie; 4. Auflage,
Urban und Schwarzenberg, München-Berlin 1950

81. Nagai, J.:
The reaction of reticulolymphocytic system and humoral IgM-antibody in skin-homograft rejection;
Acta Haematol.Jap. 31 (1968) 181 - 197

82. Ruboer, J.G.:
Treatment of certain coarctations with homologus grafts, fixed in 4 % formalin;
Arch.chir.neerl. 7 (1954) 123 - 142

25. Canty, T.G., and J.R.Wunderlich:
Quantitative assessment of cellular and humoral responses to skin and tumor allografts;
Transplantation 11 (1971) 111 - 116

26. Carell, A.:
The preservation of tissues and its application in surgery;
J.amer.med.Assoc. 59 (1912) 523 - 530

27. Cochrane, T.:
The low temperature storage of skin: a preliminary report;
Brit.J.Plast.Surg. 21 (1968) 118 - 125

28. Cohen, I., and M. Kozaki:
The production of isoantibodies in littermate days after allogeneic skin grafting;
Transplantation 7 (1969) 468 - 474

29. Dietz, G.:
Das Ulcus cruris varicosum. Erfahrungen aus einer Sprechstunde für Beinkranke bei der ambulanten Behandlung und Dispensairebetreuung dieser Volkskrankheit;
Dtsch.Ges.wesen 18 (1963) 964 - 969

30. Dietz, G:
Autologe Hauttransplantation bei Napalmverbrennung zur Vermeidung der Keloid- und Narbenkontrakturbildung;
Z.Militärmed. 4 (1975) 187 - 189

31. Domnick, A.:
Untersuchungen über die Kaltsterilisation mit PES;
Dissertation, Erfurt 1969

32, Domskij, D.A.: persönliche Mitteilung, Moskau 1973

33. Erdélyi, A.:
Klinische Bemerkungen zur Verwendung von Haut-Homoiotransplantaten in der Chirurgie;
In: Kettler-Serfling, Gewebekonserven - Herstellung und Anwendung II, VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1965, S. 202 - 205

83. O'Brien, H.A., J.D.Mitchel jr., S.Haberman, B.F.Bowen, T.E.Winford, and J.Pellet:
The use of activated glutaraldehyde as a cold sterilizing agent for urological instruments;
J.Urology 95 (1966) 429 - 435

84. O'Donoghue, M.N., and H.A.Zarem:
Stimulation of neovascularization - comparative efficacy of fresh and preserved skin grafts;
Plast.reconstr.Surg. 48 (1971) 474 - 478

85. Ollier, L.:
Sur les greffes cutanées ou autoplastiques;
Bull.Acad.Med. 1 (1872) 243 - 248

86. Pafomow, G.A.: persönliche Mitteilung, Moskau 1975

87. Palchin, A.A.:
Untersuchungen zur Möglichkeit der Erhaltung der Lebensfähigkeit von Haut unter Gefrieren und teilweisem Wasserentzug;
Dissertation, Moskau 1968, russisch

88. Parks, A.S.:
Viability of ovarian tissue after freezing;
Proc.Roy.Soc., London, Ser. B. 147 (1957) 520 - 529

89. Pepper, R.E., and V.L.Chandler:
Appl. Microbiol. 11 (1963) 384 - 390

90. Reverdin, J.L.:
Greffe epidermique;
Bull.Soc.Chir. (Paris) 19 (1869) 493 - 511

91. Reynolds, F.C., D.A.Oliver, and K.Ramsey:
Clinical evaluation of the Merthiolate bone bank amad homogenous bone grafts;
J.Bone Joint Surg. 33-A (1951) 873 - 883

92. Richter, W., und F. Falkenka:
Zur sterilen Konservierung homologer Gewebe mit Formaldehydlösung;
Z.exp. Chir. 2 (1969) 19 - 23

93. Rittenbury, M.S., and L.B.Rench:
Preliminary evaluation of an activated glutaraldehyde solution for cold sterilization;
Ann. Surg. 161 (1965) 127 - 130

94. Rohn, H.-L.:
Blutkonserve - Plasmaflüssigkonserve - Trockenplasma!?;
Pharmazie 6 (1951) 592 - 598

95. Rubbo, S.D., J.F.Gardner, and R.L.Webb:
Biocidal activities of glutaraldehyde and related compounds;
J. appl. Bacter. 30 (1967) 78 - 87

96. Santiago-Delpin, E.A., R.J.Tunis, C.O.Callender, and J.S.Najarian:
Effekt of glutaraldehyde on skin grafts;
Proc.Soc. exp. Biol.Med. 141 (1972) 996 - 998

97. Schmidt, A. und H. Gay:
Zur Behandlung frischer Verbrennungen an den Händen;
Zbl. Chir. 97 (1972) 609 - 613

98. Schmidt, J., G. Naumann und W. Korsch:
Sterilisation, Desinfektion und Entwesung in der medizinischen und pharmazeutischen Praxis einschließlich Herstellung von Injektionsarzneien;
VEB Georg Thieme, Leipzig 1968

99. Schmitt, A.:
Ein Beitrag zur Arterienkonservierung und zur Frage des präformierten bindegewebigen Transplantates;
Zbl. Chir. 31 (1957) 1310 - 1316

100. Schmitt, W.:
Allgemeine Chirurgie;
Johann Barth, Leipzig 1970

101. Schoenenberger, G.A. und E. Stäatler:
Verbrennungskrankheit - Toxinwirkung oder Infektionsfolge?;
Chirurg 45 (1974) 20 - 28

102. Seiffert, K.E.:
Biomechanik konservierter kollagener Bindegewebe;
In: Seiffert-Weißenbörfer, Transplantation von Organen und Geweben, Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1967, S. 175 - 182

103. Seiffert, K.E.:
Hautplastik bei der Versorgung frischer Verbrennungen;
Chirurg 41 (1970) 393 - 398

104. Seiffert, K.E., J.Benzel und K.F.Schmidt:
Hautersatz bei schweren Verbrennungen;
Med. Welt 45 (1968) 913 - 920

105. Sieber:
Über Anwendung und Wert konservierter Knochentransplantate;
Zbl. Chir. 80 (1955) 324 - 325

106. Silverstein, P., G.I.Haalston, H.Walker, F.D.Foley, and E.A.Pruitt:
Evaluation of formalin, fixed skin as a temporary dressing for granulating wounds;
Surg. forum 22 (1971) 60 - 64

107. Simko, K.; persönliche Mitteilung, Kosice 1979

108. Sparks, F.C., T.J.Canty, Chou-Chia Tim, E.C.Hammond, and E.E.Herberman:
Antibody response to skin allografts in mice;
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 133 (1970) 1292 - 1296

109. Sprössig, K., H.Hucke und Th.Filgner-Peter:
Über die antimikrobielle Wirkung der Peressigsäure;
3.Mitteilung: Untersuchungen zur bakteriziden und sporiziden Wirkung, Thermasie 22 (1967) 517 - 519

110. Sprössig, K. und I.Stephan:
Vergleichende Untersuchungen über die bakteriziden Eigenschaften von Natriumäthylmercurithiosalicylat (Merthiolat) und Phenol;
Pharmazie 9 (1954) 30 - 34

111. Steinmuller, D.:
Failure of lyophilized tissues to evoke a secondary response to skin homografts;
Transplantation 2 (1964) 383 - 386

112. Stengel, W.:
Die Behandlung von Verbrennungswunden mit Schweinehaut;
In: Renn, Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Unfallheilkunde, Versicherungs-Versorgungs- und Verkehrsmedizin E.V.,
Hefte Unfallheilk. 34 (1962) 293 - 295

113. Stonehill, A.A., E.Krop, and P.M. Borick:
Buffered glutaraldehyde. A new chemical sterilizing solution;
Ann. J. Hosp. Pharm. 20 (1963) 458 - 465

114. Sutherland, T.B., O.H.Williamson, K.Linnemann, and H.J.Shuksmith:
Graft sterilization. A bacteriological and histological study of the relative merits of ethylene oxide and ß-propiolactone as tissue sterilising agents, with special reference to arterial grafts;
Brit.med. J. 1958, 734 - 736

115. Terasaki, P.I., E.J.Bold, J.A.Cannon, and G.I.Longmire jr.:
Antibody response to homografts. VI. In vitro cytotoxins produced by skin homografts in rabbits;
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 106 (1961) 135 - 136

116. Thiersch, C.:
Über die feineren anatomischen Veränderungen bei Aufheilung von Haut auf Granulationen;
Verh.dtsch.orthop. Ges. 3 (1874) 69 - 75

117. Ticháček, B.:
Peressigsäure;
In: Horn-Přívora-Neuffen, Handbuch der Desinfektion und Sterilisation, Band I, Grundlagen der Desinfektion, VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1972 S. 162 - 177

118. Trafas, P.C., R.R.Sarison, G.A.LoGrippo, and C.R.Lam:
Chemical sterilization of arterial homografts;
Arch.Surg. 69 (1954) 415 - 422

119. Wallhäusser, K.H. und H.Schmidt:
Sterilisation, Desinfektion, Konservierung, Chemotherapie;
Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1967

120. Wiedmann, A:
Der variköse Symptomenkomplex. Bericht über die Literatur aus den Jahren 1855 - 1960;
Hautarzt 12 (1961) 433 - 438 und 481 - 489

121. Wolfe, J.:
A new method of performing plastic operation;
Brit.med. J. 2 (1875) 360 - 372

122. Wolfram, B.R., and G.A.LoGrippe:
Betapropiolastone plus ultraviolet irradiated plasma. A clinical evaluation for hepatitis, toxicity and allergy;
Bibl.haemat. 13 (1964) 644 - 647

123. Zellner, F.R.:
Die verbrannte Hand;
Chirurg 41 (1970) 403 - 406

124. Zellner, F.R., I.Taubert und K.Wegener:
Transplantation und Konservierung gewebetypisierter Haut bei Brandverletzten;
Chirurg 46 (1975) 319 - 322

125. Zeltan, J.:
Die Anwendung des Spalthautlappens in der Chirurgie;
VEB Gustav Fischer-Verlag, Jena 1962

Tabelle I Stadien der Behandlung von Verbrennungen durch Transplantation (nach Frank)

primäre Eingriffe	primäre Exzision + Deckung	bis 12 h
	verzögerte primäre Exzision + Deckung	nach 12-48 h
	beschleunigte primäre Exzision + sofortige oder verschobene Deckung	nach 2-14 d
sekundäre Eingriffe	verschobene frühe Transplantation	nach 3-6 Wochen
	verspätete Transplantation	nach 6 Wochen

Tabelle II Nutzen einer früher allogenen Hauttransplantation (nach Hackenseliner)

1. Infektionsschutz
2. Reduktion des Wasser-, Elektrolyt- und Eiweißverlustes
3. Reduktion des Wärme- (Ernergie-) verlustes
4. Schmerzlinderung
5. Erhöhung der Mobilität – sekundär: Reduktion von Komplikation wie Pneumonien, Kontrakturen, Dekubitus
6. Reduktion der Heilungszeit, des Krankenhausaufenthaltes sowie von Zahl und Ausmaß chirurgischer Eingriffe
7. Verbesserung des allgemeinen körperlichen Wohlbefindens (Appetit u.s.w.)
8. Verbesserung des psychischen Wohlbefindens
9. Vorübergehendes oder dauerndes Einsparen von Eigenhaut

und bakteriologischen Untersuchungen an konservierter Rattenhaut

Methoden		1d			3d			7d			14d			21d			90d			
		Chem. 1)	Hist. 1)	Phys. 2)	Chem 1)	Hist. 1)	Phys 2)	Chem. 1)	Hist. 1)	Phys. 2)	Chem. 1)	Hist. 1)	Phys. 2)	Chem. 1)	Hist. 1)	Phys. 2)	Chem. 1)	Hist. 1)	Phys. 2)	Steril. 1)
PES 0,1 % pH 7,4	n 3)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3
	ml 4)	3	5		3	5		3	5		3	5		3	5		3	5		5
BPL 1,0 % pH 7,4	n 3)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3
	ml 4)	3	5		3	5		3	5		3	5		3	5		3	5		5
BPL 0,01 % pH 7,4	n 3)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3
	ml 4)	3	5		3	5		3	5		3	5		3	5		3	5		10
FA 4,0 % pH 7,4	n 3)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3
	ml 4)	3	5		3	5		3	5		3	5		3	5		3	5		5
CA 0,02 % pH 7,4	n 3)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3
	ml 4)	3	5		3	5		3	5		3	5		3	5		3	5		5
MT 0,1 % pH 7,4	n 3)	3	1	1	3	1	1	3	1	1	3	1	1	3	1	1	3	1	1	3
	ml 4)	3	5		3	5		3	5		3	5		3	5		3	5		10
GA 2,0 % pH 8,5-9,0	n 3)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3
	ml 4)	3	5		3	5		3	5		3	5		3	5		3	5		5

Erklärung 1) Stanze entsprechend Abbildung 1a 2) Stanze entsprechend Abbildung 1c

3) Anzahl der Stanzen pro Röhrchen 4) Menge der Konservierungslösung pro Röhrchen

(bei der Untersuchung nach Biuret wurden drei Hautprobekörper eingelegt, da diese Reaktion weniger empfindlich ist als die Reaktion nach Folin)

Tabelle IV Synopsis zum Aufbau der immunologischen Untersuchungen

(Transplantationsexperimente) an (mit) konservierter Rattenhaut

	Methoden der Hautkonservierung (Haut von Wistarratten)	Stanzen (n)	Hauttransplantationen auf BD IX - Ratten 1. Transplantation (first set)	Stanzen (n)	Tiere (n)	2. Transplantation (second set)	Stanzen (n)	Tiere (n)
Versuche	PES 0,1% pH 7,4	10	konservierte Haut (von Wistarratten) s.c. in Hauttasche	10	5	vitale Haut (von Wistarratten) orthotop	10	5
	BPL 0,01% pH 7,4	10		10	5		10	5
	FA 4,0% pH 7,4	10		10	5		10	5
	CA 0,02% pH 7,4	10		10	5		10	5
	MT 0,1% pH 7,4	10		10	5		10	5
	GA 2,0% pH 8,5-9,0	10		10	5		10	5
Kontrollen	TTL (-20°C)	10		10	5		10	5
	GT	10		10	5		10	5
	(first-set-Kontrollen)		vitale Haut (von Wistarratten) orthotop	20	10			
	(second-set-Kontrollen)		vitale Haut (von Wistarratten) s.c. im Hauttasche	20	10	vitale Haut (von Wistarratten) orthotop	20	10

Tabelle V Synopsis zum Aufbau der immunologischen Untersuchungen (Transplantationsexperimente) an (mit) konservierter Mäusehaut

	Methoden der Hautkonservierung (Haut von A-Mäusen)	Stanzen (n)	Hauttransplantationen auf B10LP-Mäuse: 1. Transplantation (first-set)	Stanzen (n)	Tiere (n)	2. Transplantation (second-set)	Stanzen (n)	Tiere (n)
Versuche	PES 1,0% pH 7,4	12	konservierte Haut (von A-Mäusen) s.c. in Hauttasche	12	12	vitale Ohrhaut (von A-Mäusen) orthotop	12	12
	BPL 0,01% pH 7,4	12		12	12		12	12
	FA 4,0% pH 7,4	12		12	12		12	12
	CA 0,02% pH 7,4	12		12	12		12	12
	MT 0,1% pH 7,4	12		12	12		12	12
	GA 2,0% pH 8,5-9,0	12		12	12		12	12
Kontrollen	TTL (-38°C)	12		12	12		12	12
	GT	12		12	12		12	12
	(first-set-Kontrollen)		vitale Ohrhaut (von A-Mäusen) - orthotop	12	12			
	(second-set-Kontrollen)		vitale Haut (von A-Mäusen) s.c. in Hauttasche	12	12	vitale Ohrhaut (von A-Mäusen) orthotop	12	12

Tabelle VI Synopsis zum Aufbau der physikalischen, chemischen und bakteriologischen Untersuchungen an konservierter Leichenhaut

Konservierungsmethoden		21 d						90 d					
		[illegible] 1)		[illegible] 2)		[illegible] 2)		[illegible] 1)		[illegible] 2)		[illegible] 2)	
		4°C	22°C	4°C	22°C	4°C	22°C	4°C	22°C	4°C	22°C	4°C	22°C
PES 0,1 % pH 7,4	n 3)	1	1	2	2	1	1						
	ml 4)	3	3	5	5	5	5						
BPL 0,01 % pH 7,4	n 3)	1	1	2	2	1	1						
	ml 4)	3	3	5	5	5	5						
FA 4,0 % pH 7,4	n 3)	1	1	2	2	1	1						
	ml 4)	3	3	5	5	5	5						
CA 0,02 % pH 7,4	n 3)	1	1	2	2	1	1						
	ml 4)	3	3	5	5	5	5						
MT 0,1 % pH 7,4	n 3)	1	1	2	2	1	1						
	ml 4)	3	3	5	5	5	5						
GA 2,0 % pH 8,5-9,0	n 3)	1	1	2	2	1	1	1	1	2	2	1	1
	ml 4)	3	3	5	5	5	5	3	3	5	5	5	5

Erklärung

1) Stanze entsprechend Abbildung 1a

2) Stanze entsprechend Abbildung 1c

3) Anzahl der Stanzen pro Röhrchen

4) Menge der Konservierungslösung pro Röhrchen

Tabelle VII Synopsis zum Aufbau der speziellen Sterilitätsuntersuchungen an konservierter Leichenhaut

	Konservierungsmethoden		
Versuche	PES 1,0% pH 7,4	n [1]	1
		ml [2]	20
	BPL 0,01% pH 7,4	n [1]	1
		ml [2]	20
	FA 4,0% pH 7,4	n [1]	1
		ml [2]	20
	CA 0,02% pH 7,4	n [1]	1
		ml [2]	20
	MT 0,1% pH 7,4	n [1]	1
		ml [2]	20
	GA 2,0% pH 8,5 – 9,0	n [1]	1
		ml [2]	20
Kontrollen	Frischhaut (unkonserviert)		
	Phosphatpuffer		

1) Anzahl der Stanzen pro Kölbchen

2) Menge der Konservierungslösung pro Kölbchen

Tabelle VIII Zerreißfestigkeit konservierter Rattenhaut in g; Meßwerte

	1 d	3 d	7 d	14 d	21 d	90 d
PES	1500	700	2000	990	2140	800
	1225	640	250	2000	960	670
	1765	940	1050	1780	1300	550
	1915	1020	1530	800	1400	390
	1165	635	350	2000	900	1080
BPL	1600	800	1160	1100	1050	600
	1300	1880	547	700	620	1180
	1320	1340	440	960	580	960
	1780	1140	440	830	740	770
	1380	1850	190	897	740	440
FA	1720	1320	1620	2460	2130	1300
	2160	2230	2380	2420	1940	2660
	1470	2560	3540	2040	1720	1420
	1900	2530	1420	1150	2280	2980
	2600	2840	2200	2660	1390	1240
CA	600	850	825	1060	900	1160
	750	900	1320	1150	1540	460
	840	1200	1080	1190	980	410
	1660	1190	1380	1390	1500	860
	900	1240	600	680	1210	620
MT	1900	1250	1900	930	1480	670
	1200	980	610	1030	1420	1050
	1100	800	1150	920	1740	1480
	1060	1340	970	1100	880	580
	700	1180	950	1130	890	600
GA	2280	760	1430	1200	2000	780
	1080	2120	1900	840	860	2160
	1040	1240	2280	1170	2160	1160
	1200	1420	910	2720	1340	1360
	1440	1560	2530	1040	2120	900
K			1420	730		
			1770	2260		
			1150	1010		
			460	920		
			1030	730		

Tabelle IX Zerreißfestigkeit konservierter Rattenhaut in g, Mittelwerte ($\bar{x}$) und Streuung der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$):

	1d	3d	7d	14d	21d	90d
PES	1514 ± 146,5	787 ± 80,6	1036 ± 336,3	1514 ± 257,6	1340 ± 221,8	698 ± 117,0
BPL	1484 ± 89,3	1402 ± 207,9	548 ± 189,1	898 ± 76,8	748 ± 84,3	770 ± 152,9
FA	1970 ± 193,7	2296 ± 372,0	2232 ± 372,0	2146 ± 268,4	1892 ± 156,7	1920 ± 372,0
CA	950 ± 184,6	1076 ± 82,9	1041 ± 147,6	1094 ± 116,7	1210 ± 160,2	702 ± 138,8
MT	1192 ± 196,1	1110 ± 214,6	1116 ± 214,6	1022 ± 42,8	1282 ± 170,8	866 ± 164,8
GA	1408 ± 228,9	1420 ± 221,1	1810 ± 291,7	1394 ± 337,5	1696 ± 256,2	1272 ± 243,9
K	1148 ± 240,6					

Tabelle X Zerreißfestigkeit konservierter Rattenhaut; statistischer Vergleich (t- und F-Test)

\+ = Signifikant ($p = 0{,}05$)

\- = nicht Signifikant

1d	PES	BPL	FA	CA	MT	GA	K
PES		−	−	+	−	−	−
BPL	−		−	+	−	−	−
FA	−	−		+	+	−	+
CA	+	+	+		−	−	−
MT	−	−	+	−		−	−
GA	−	−	−	−	−		−
K	−	−	+	−	−	−	

3d	PES	BPL	FA	CA	MT	GA	K
PES		+	+	+	+	+	−
BPL	+		+	−	−	−	−
FA	+	+		+	+	+	+
CA	+	−	+		−	−	−
MT	+	−	+	−		−	−
GA	+	−	+	−	−		−
K	−	−	+	−	−	−	

7d	PES	BPL	FA	CA	MT	GA	K
PES		−	+	−	−	−	−
BPL	−		+	−	−	+	−
FA	+	+		+	+	−	+
CA	−	−	+		−	+[1)]	−
MT	−	−	+	−		−	−
GA	−	+	−	+[1)]	−		−
K	−	−	+	−	−	−	

14d	PES	BPL	FA	CA	MT	GA	K
PES		−	−	−	−	−	−
BPL	−		+	−	−	−	−
FA	−	+		+	+	−	+
CA	−	−	+		−	−	−
MT	−	−	+	−		−	−
GA	−	−	−	−	−		−
K	−	−	+	−	−	−	

21d	PES	BPL	FA	CA	MT	GA	K
PES		+[1)]	−	−	−	−	−
BPL	+[1)]		+	+[1)]	+	+	−
FA	−	+		+	+	−	+
CA	−	+[1)]	+		−	−	−
MT	−	+	+	−		−	−
GA	−	+	−	−	−		−
K	−	−	+	−	−	−	

90d	PES	BPL	FA	CA	MT	GA	K
PES		−	+	−	−	−	−
BPL	−		+	−	−	−	−
FA	+	+		+	+	−	+[1)]
CA	−	−	+		−	−	−
MT	−	−	+	−		−	−
GA	−	−	−	−	−		−
K	−	−	+[1)]	−	−	−	

1) nur im t-Test signifikant

Tabelle XI Dehnbarkeit konservierter Rattenhaut in mm/min; Meßwerte

	1d	3d	7d	14d	21d	90d
PES	113	227	267	133	200	133
	100	173	133	182	173	300
	233	160	133	280	280	213
	187	227	107	133	280	213
	133	200	160	182	120	160
BPL	153	153	193	220	133	73
	187	260	224	80	227	
	167	200	267	220	160	
	247	200	267	160	260	
	140	200	167	170	133	
FA	213	100	213	240	220	193
	240	233	220	253	233	280
	213	293	320	207	213	200
	227	320	233	240	220	280
	280	240	260	260	193	160
CA	287	180	260	160	280	140
	367	213	253	147	200	
	220	240	240	173	157	
	293	253	240	173	267	
	240	260	248	187	226	
MT	260	247	187	213	300	227
	220	147	213	227	246	
	207	167	153	280	260	
	200	153	280	247	240	
	207	200	193	200	200	
GA	147	113	40	67	93	173
	107	120	187	160	93	187
	133	173	127	167	67	153
	113	107	160	120	100	147
	113	160	93	120	120	180
K			267	253		
			227	187		
			180	180		
			133	200		
			240			

Tabelle XII Dehnbarkeit konservierter Rattenhaut in mm/min; Mittelwerte ($\bar{x}$) und Streuung der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$)

	1 d	3 d	7 d	14 d	21 d	90 d
PES	153 ± 24,9	197 ± 13,7	160 ± 32,4	182 ± 38,0	211 ± 31,1	208 ± 26,3
BPL	179 ± 18,7	203 ± 17,0	224 ± 23,0	170 ± 29,7	183 ± 25,9	(73) [1]
FA	235 ± 12,4	237 ± 38,0	249 ± 19,4	240 ± 10,5	216 ± 6,6	223 ± 24,4
CA	281 ± 25,5	229 ± 14,7	248 ± 4,4	168 ± 6,8	226 ± 25,9	(140) [1]
MT	219 ± 10,8	183 ± 18,5	205 ± 21,0	233 ± 14,0	249 ± 16,1	(227) [1]
GA	123 ± 7,5	135 ± 13,3	121 ± 25,7	127 ± 17,9	95 ± 8,5	168 ± 7,7
K	207 ± 19,1					

1) nur 1 Meßwert

Tabelle XIII Dehnbarkeit konservierter Rattenhaut.

Statistischer Vergleich (t- und F-Test);

+ = signifikant (p=0,05); - = nicht signifikant

1d	PES	BPL	FA	CA	MT	GA	K
PES		-	+	+	+[1]	-	-
BPL	-		+	+	-	+	-
FA	+	+		-	-	+	-
CA	+	+	-		-	+	+
MT	+[1]	-	-	-		+	-
GA	-	+	+	+	+		+
K	-	-	-	-	-	+	

3d	PES	BPL	FA	CA	MT	GA	K
PES		-	-	-	-	-	-
BPL	-		-	-	-	+	-
FA	-	-		-	-	+[1]	-
CA	-	-	-		-	-	-
MT	-	-	-	-		-	-
GA	-	+	+[1]	-	-		+
K	-	-	-	-	-	+	

7d	PES	BPL	FA	CA	MT	GA	K
PES		-	-	-	-	-	-
BPL	-		-	-	-	+	-
FA	-	-		-	-	+	-
CA	-	-	-		-	+	-
MT	-	-	-	-		+	-
GA	-	+	+	+	+		+
K	-	-	-	-	-	+	

14d	PES	BPL	FA	CA	MT	GA	K
PES		-	-	-	-	-	-
BPL	-		-	-	-	-	-
FA	-	-		-	-	+	-
CA	-	-	-		+	-	-
MT	-	-	-	+		+	-
GA	-	-	+	-	+		+
K	-	-	-	-	-	+	

21d	PES	BPL	FA	CA	MA	GA	K
PES		-	-	-	-	+	-
BPL	-		-	-	-	+	-
FA	-	-		-	-	+	-
CA	-	-	-		-	+	-
MA	-	-	-	-		+	-
GA	+	+	+	+	+		+
K	-	-	-	-	-	+	

[1]) nur im t-Test signifikant

Tabelle XIV Eiweißverlust konservierter Rattenhaut in mg:

Meßwerte

	1d	3d	7d	14d	21d	90d
PES	0,29 0,39 0,66 0,41 0,26	1,60 0,62 0,44 0,40 1,07	1,68 1,11 1,59 1,17 1,32	1,41 1,30 1,17 1,41 1,12	2,82 2,04 2,10 1,74 2,31	5,76 26,25 8,20
BPL 1,0%	1,24 0,94 1,59 0,93 0,76	3,16 2,25 2,25 2,34 1,84	4,92 3,28 5,00 2,28 2,27	4,25 4,83 4,62 4,88 3,03	3,90 3,08 5,10 6,38 4,43	0,73 0,77 1,19 0,71 1,04
BPL 0,01%	1,61 1,17 0,85 0,69 0,90	1,08 0,98 1,98 1,53 1,61	2,17 1,65 1,98 1,82 1,44	0,92 0,80 0,90 0,55 0,91	0,56 0,46 1,52 1,03 1,75	0,62 0,32 0,77 0,90 0,36
FA	0,13 0,15 0,25 0,14 0,18	0,31 0,29 0,35 0,24 0,35	0,26 0,12 0,73 0,23 0,12	0,17 0,28 0,26 0,23 0,19	0,32 0,16 0,34 0,38 0,34	1,45 1,10
CA	0,63 0,56 0,27 0,59 0,60	0,57 0,88 0,28 0,65 0,60	1,00 0,59 0,69 0,57 0,75	0,76 0,68 0,77 0,59 0,74	1,06 0,95 0,94 0,95 1,33	4,40 3,75 6,55 2,33 3,05
MT	0,04 0,05 0,05 0,05	0,14 0,18 0,16 0,10 0,09	0,16 0,11 0,26 0,21 0,14	0,19 0,23 0,24 0,15 0,28	0,87 0,70 1,00 0,87 0,63	6,83 6,10 9,50
GA	1,93 1,79 1,82 1,80 1,82	2,63 2,61 2,67 2,46 2,54	2,34 2,22 2,33 2,16 2,49	2,98 2,56 2,76 2,49 2,46	2,76 2,86 2,76 2,76 3,02	0,80 0,80 0,75 1,80 1,03

Tabelle XV Eiweißverlust konservierter Rattenhaut in mg; Mittelwerte ($\bar{x}$) und Streuung der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$).

	1d	3d	7d	14d	21d	90d
PES	0,40 ± 0,072	0,82 ± 0,228	1,37 ± 0,112	1,28 ± 0,060	2,26 ± 0,119	(13,40) [1]
BPL 1,0%	3,10 ± 0,164	2,31 ± 0,216	3,55 ± 0,685	4,32 ± 0,541	4,58 ± 0,559	9,88 ± 0,096
BPL 0,01%	1,04 ± 0,161	1,43 ± 0,184	1,81 ± 0,126	0,82 ± 0,069	1,06 ± 0,058	6,59 ± 0,142
FA	0,11 ± 0,02	0,31 ± 0,029	0,29 ± 0,111	0,22 ± 0,02	0,31 ± 0,037	(1,32) [2]
CA	0,53 ± 0,165	0,59 ± 0,069	0,72 ± 0,077	0,70 ± 0,032	1,04 ± 0,113	4,02 ± 0,742
MT	0,04 ± 0,033	0,13 ± 0,014	0,11 ± 0,024	0,22 ± 0,02	0,81 ± 0,065	(7,48) [2]
GA	1,83 ± 0,024	2,58 ± 0,065	2,31 ± 0,056	2,05 ± 0,197	2,83 ± 0,05	1,03 ± 0,2

1) nur 3 Meßwerte

2) nur 2 Meßwerte

Tabelle XVI Eiweißverlust konservierter Rattenhaut; statistischer Vergleich (t- und F-Test); + = signifikant ($p = 0{,}05$); − = nicht signifikant

1 d	PES	BPL 1,0%	BPL 0,01%	FA	CA	MT	GA
PES		+	+	+	−	+	+
BPL 1,0%	+		−	+	+	+	+
BPL 0,01%	+	−		+	+	+	+
FA	+	+	+		+	+	+
CA	−	+	+	+		+	+
MT	+	+	+	+	+		+
GA	+	+	+	+	+	+	

3 d	PES	BPL 1,0%	BPL 0,01%	FA	CA	MT	GA
PES		+	−	−	−	+	+
BPL 1,0%	+		+	+	+	+	−
BPL 0,01%	−	+		+	+	+	+
FA	−	+	+		+[1]	+	+
CA	−	+	+	+[1]		+	+
MT	+	+	+	+	+		+
GA	+	−	+	+	+	+	

7 d	PES	BPL 1,0%	BPL 0,01%	FA	CA	MT	GA
PES		+	+	+	+	+	+
BPL 1,0%	+		+	+	+	+	−
BPL 0,01%	+	+		+	+	+	+
FA	+	+	+		+	−	+
CA	+	+	+	+		+	+
MT	+	+	+	−	+		+
GA	+	−	+	+	+	+	

14 d	PES	BPL 1,0%	BPL 0,01%	FA	CA	MT	GA
PES		+	+	+	+	+	+
BPL 1,0%	+		+	+	+	+	+
BPL 0,01%	+	+		+	−	+	+
FA	+	+	+		+	−	+
CA	+	+	−	+		+	+
MT	+	+	+	−	+		+
GA	+	+	+	+	+	+	

21 d	PES	BPL 1,0%	BPL 0,01%	FA	CA	MT	GA
PES		+	+	+	+	+	+
BPL 1,0%	+		+	+	+	+	+
BPL 0,01%	+	+		+	−	−	+
FA	+	+	+		+	+	+
CA	+	+	−	+		+	+
MT	+	+	−	+	−		+
GA	+	+	+	+	+	+	

90 d	PES	BPL 1,0%	BPL 0,01%	FA	CA	MT	GA
PES		+[1]	+[1]	−	−	−	+[1]
BPL 1,0%	+[1]		−	−	+	+	−
BPL 0,01%	+[1]	−		+[1]	+	+	−
FA	−	−	+[1]		−	+	−
CA	−	+	+	−		+	+
MT	−	+	+	+	+		+
GA	+[1]	−	−	−	+	+	

1) nur im t-Test signifikant

Tabelle XVII Sterilität der konservierten Rattenhaut nach 90 d

	steril x/n	steril %	bei unsterilen Proben gefundene Keime
PES	3/5	60	Hefezellen + Pilzsporen, z. T. + gramnegative Stäbchen
BPL	0/5		gramnegative sowie grampositive Stäbchen, Sporen, Hefezellen, starke Gasbildung, Schimmelpilze
FA	5/5	100	
CA	0/5		gramnegative und grampositive Stäbchen sowie Sporen, gasbildende Mikroorganismen
MT	0/5		starke Gasbildung
GA	5/5	100	

Tabelle XVIII Lymphknotenindex nach Sensibilisierung mit konservierter Rattenhaut und orthotoper Zweittransplantation vitaler Frischhaut; Mittelwerte ($\bar{x}$) und Streuung der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$)

Lymphknotenindex

	n	$\bar{x}$	$\pm$	$s_{\bar{x}}$
PES	2	3,9		0,88
BPL	4	3,5		0,15
FA	5	5,2		0,10
CA	2	3,7		1,39
MT	3	3,3		0,38
GA	4	4,0		0,09
TTL	4	3,9		0,21
GT	2	4,1		0,07
FSK	8	2,3		0,05
SSK	7	4,3		0,13

Tabelle XIX Überlebenszeit vitaler Fleischhaut nach Sensibilisierung mit konservierter Rattenhaut; Mittelwerte ($\bar{x}$) und Streuung der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$)

	n	Überlebenszeit $\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$
PEC	4	9,0	0,29
SPL	7	7,9	0,17
FA	7	8,6	0,26
CA	3	8,3	0,19
MT	7	9,4	0,20
GA	6	10,0	0,21
TTL	7	10,4	0,09
GT	4	10,5	0,14
FSK	14	10,2	0,05
SSK	13	7,4	0,45

Tabelle XX Lymphknotenindex nach Sensibilisierung mit konservierter Mäusehaut und orthotoper Zweittransplantation vitaler Frischhaut; Mittelwerte ($\bar{x}$) und Streuung der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$)

	n	$\bar{x}$ ± $s_{\bar{x}}$
PES	10	3,8 0,63
BPL	9	4,9 0,80
FA	8	4,2 0,25
MT	9	5,2 0,93
GA	9	4,7 1,47
TTL	10	5,3 0,85
GT	10	5,2 0,89
FSK	9	3,4 0,67
SSK	9	4,8 0,80
unbeh. K.	9	2,3 0,10

abelle XXI Lymphknotenindex nach Sensibilisierung mit konservierter Mäusehaut und orthotoper Zweittransplantation vitaler Frischhaut; statistischer Vergleich (t-Test)

\+ = Signifikant ($p = 0,05$)

\- = nicht Signifikant

	PES	BPL	FA	MT	GA	TTL	GT	FSK	SSK	unbeh. K.
PES		–	–	–	–	+	–	–	–	+
BPL	–		–	–	–	–	–	+	–	+
FA	–	–		–	–	–	–	–	–	+
MT	–	–	–		–	–	–	+	–	+
GA	–	–	–	–		–	–	–	–	+
TTL	+	–	–	–	–		–	+	–	+
GT	–	–	–	–	–	–		+	–	+
FSK	–	+	–	+	–	+	+		–	+
SSK	–	–	–	–	–	–	–	–		+
unbeh. K.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Tabelle XXII Überlebenszeit vitaler Frischhaut nach Sensibilisierung mit konservierter Mäusehaut; Mittelwerte ($\bar{x}$) und Streuung der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$)

	n	Überlebenszeit $\bar{x}$	±	$s_{\bar{x}}$
PES	11	8,5		0,15
BPL	9	8,7		0,17
FA	8	8,3		0,07
MT	10	8,7		0,13
GA	10	8,7		0,22
TTL	10	9,0		0,19
GT	10	9,2		0,25
FSK	9	9,2		0,23
SSK	10	6,5		0,09

abelle XXIII Überlebenszeit vitaler Frischhaut nach Sensibilisierung mit konservierter Mäusehaut; statistischer Vergleich (t-Test);
+ = Signifikant ($p = 0{,}05$)
− = nicht Signifikant

	PES	BPL	FA	MT	GA	TTL	GT	FSK	SSK
PES		−	−	−	−	−	−	−	+
BPL	−		−	−	−	−	−	−	+
FA	−	−		−	−	+	+	+	+
MT	−	−	−		−	−	−	−	+
GA	−	−	−	−		−	−	−	+
TTL	−	−	+	−	−		−	−	+
GT	−	−	+	−	−	−		−	+
FSK	−	−	+	−	−	−	−		+
SSK	+	+	+	+	+	+	+	+	

Tabelle XXIV Lymphozytotoxische Antikörper nach Sensibilisierung mit konservierter Mäusehaut und orthotoper Zweittransplantation vitaler Frischhaut

	N[1]	n[2]	%
PES	11	0	0
BPL	8	1	13
FA	8	3	38
MT	11	3	27
GA	10	0	0
TTL	10	2	20
GT	10	2	20
FSK	9	3	33
SSK	10	5	50
unbeh. K.	11	0	0

1) Gesamtzahl der ausgewerteten Tiere

2) Tiere mit LZA

Tabelle XXV Eiweißverlust konservierter Leichenhaut in mg ; Mittelwerte ($\bar{x}$) und Streuung der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$)

	n	Lagerungszeit 21 d				Lagerungszeit 90 d			
		Lagerung bei 4°C		Lagerung bei 22 °C		Lagerung bei 4 °C		Lagerung bei 22 °C	
		$\bar{x}$	$\pm s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$\pm s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$\pm s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$\pm s_{\bar{x}}$
PES	5	3,96	0,014	5,16	0,013				
BPL	5	3,52	0,008	4,62	0,039				
FA	5	1,34	0,008	1,14	0,003				
CA	5	4,24	0,016	4,36	0,004				
MT	5	0,18	0,007	0,87	0,008				
GA	5	3,31	0,007	3,86	0,010	7,33	0,458	7,92	0,413

Tabelle XXVI Sterilität der konservierten Leichenhaut nach 21 d

	Lagerung bei 4 °C		Lagerung bei 22 °C	
	steril		steril	
	x/n	%	x/n	%
PES	0/5		0/5	1)
BPL	0/5		0/5	
FA	4/5	80	5/5	100
CA	0/5		0/5	
MT	2/5	40	4/5	80
GA	4/5	80	3/5	60

1) bei 4 von 5 Präparaten makroskopisch Schimmelpilze

Tabelle XXVII Sterilität konservierter Leichenhaut

nach 21 d - spezielle Untersuchungen

	steril		bei unsterilen Proben gefundene Keime
	n/n	%	
PES 1,0%	5/5	100	
PES 0,1%	5/5	100	
BPL	5/5	100	
FA	5/5	100	
CA	3/5	60	anaerob: gramlabile Stäbchen (Sporenbildner)
MT	2/5	40	anaerob: gramlabile Stäbchen (Sporenbildner)
GA	5/5	100	
K	0/5		Staphylococcus epidermidis, vergrünende Steptokokken, Proteus, E. coli, Erreger aus der Aerobaktergruppe, verschiedene Arten von Sporenbildnern

	Setzung drittgradiger Verbrennungen bei B10.LP-Mäusen (Tag 0) Tiere (n)	Transplantation konservierter Haut von B17 – Mäusen (Tag 1) Konservierungsmethoden	Inspektion der Transplantate bei Verbrennungswunden (Tag 2 bis Tag 30) Blutabnahme für Lymphocytotoxtest (Tag 14) Tiere (n)	(Tag 21) Tiere (n)	Tötung der Tiere u. Lymphknotenpräparation (Tag 30) Tiere (n)
Versuche	8	PES 0,1 %	6	6	6
	8	BPL 0,1 %	6	6	6
	8	FA 4,0 %	6	6	6
	8	CA 0,02 %	6	6	6
	8	MT 0,1 %	6	6	6
	8	GA 2,0 %	8	8	8
Kontrollen	8	TTL (-36°C)	7	7	7
	5	GT	6	6	6
	6	Frischhaut	7	7	6
	10	ohne Transplantation	5	5	5

	Tiere zum Versuchsbeginn n	Verstorbene Tiere	Tiere zur Auswertung n (%)	Transplantatabstoßung in Tagen $\bar{x}$	±	$s_{\bar{x}}$	Wundheilungsgrad in Tagen $\bar{x}$	±	$s_{\bar{x}}$
PES	8	nach 1 d nach 3 d	6 (75)	12,0		0,57	20,2		0,87
BPL	8	nach 1 d nach 2 d	6 (75)	9,7		0,33	bei 2 Tieren nach 30 d noch kleine Wunde.		
FA	8	nach 1 d nach 4 d	6 (75)	12,5		0,56	bei 1 Tier nach 30d noch kleine Wunde		
CA	8	nach 1 d nach 3 d	6 (75)	11,5		0,43	21,0		1,00
MT	8	nach 1 d nach 2 d	6 (75)	12,5		0,56	bei 1 Tier nach 30d noch kleine Wunde		
GA	8	———	8 (100)	12,4		0,45	18,5		0,75
TTL	8	nach 1 d	7 (88)	12,8		0,40	20,0		0,62
GT	8	nach 1 d	7 (88)	11,8		1,80	21,7		1,23
Frischhaut	8	nach 1 d	7 (88)	13,1		0,34	20,4		0,87
ohne Behandlung	10	nach 1 d nach 2 d nach 3 d	5 (50)	———			bei 1 Tier nach 30 d noch große Wunde, bei 3 Tieren noch mittelgroße Wunde		

Tabelle XXX Lymphknotenindex nach Behandlung von lokalen Verbrennungen 3. Grades durch Transplantation konservierter Haut bei Mäusen; Mittelwerte ($\bar{x}$) und Streuung der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$)

	n	$\bar{x}$ ± $s_{\bar{x}}$
PES	6	1,9 0,22
BPL	6	2,7 0,58
FA	6	2,1 0,45
CA	6	1,9 0,23
MT	6	2,4 0,34
GA	8	2,8 0,27
TTL	7	2,5 0,37
GT	6 [1)]	2,4 0,26
Frischhaut	6 [2)]	2,3 0,33
ohne Behandlung	5	1,6 0,11

1) 1 Tier (nach abgeschlossener Wundheilung) nach 28 d spontan gestorben

2) 1 Tier (nach abgeschlossener Wundheilung) nach 26 d spontan gestorben

Tabelle XXXI

Lymphozytotoxische Antikörper nach Behandlung von lokalen Verbrennungen 3. Grades durch Transplantation konservierter Haut bei Mäusen

	nach 14 Tagen			nach 21 Tagen		
	N[1]	lymphozytotoxische Antikörper		N[1]	lymphozytotoxische Antikörper	
		n[2]	%		n[2]	%
PES	6	0	0	6	0	0
BPL	6	0	0	6	0	0
FA	6	0	0	5	0	0
CA	6	0	0	5	0	0
MT	6	2	33	5	0	0
GA	8	3	38	8	1	13
TTL	7	2	29	7	1	14
GT	6	3	50	5	0	0
Frischhaut	7	2	29	7	2	29
ohne Behandlung	5	2	40	4	0	0

1) Gesamtzahl der ausgewerteten Tiere

2) Tiere mit LZA

Tabelle XXXII Ergebnis der klinischen Anwendung von konservierter Leichenhaut bei Ulcera Cruris, dargestellt
1. unter Zugrundelegung von Scorewertesummen (SWS), wobei eingehen: sauberes Wundbett (evtl. mit punktförmigen Blutungen) und Granulationsneigung = +2; Haften der transplantierten Haut nach 10 Tagen = +1; Transplantat von der Unterlage abgehoben u./o. Wundbett ausgetrocknet = -1; Wundbett eitrig belegt = -2;
2. unter Globalbeurteilung (GB) im Sinne eines Erfolges, wobei als positiv alle Fälle mit positiver Scorewertesumme angenommen werden

Patienten	FES		BPL		FA		CA		MT		GA	
	SWS	GB	SWS	GB	SWS	GB	SWS	GB	SWS	GB	SWS	GB
H. D.	3	+	-1		3	+	0		3	+	0	
P. H.	3	+	-2		3	+	-1		0		3	
E. L.	3	+	0		-1		-2		3	+	3	
G. K.	-2		-2		3	+	0		3	+	3	
K. C.	3	+	-1		3	+	-1		3	+	-1	
O. K.	3	+	-1		0		-2		-1		3	
G. Z.	-2		0		3	+	-1		3	+	3	
S. W.	3	+	-2		3	+	-2		3	+	-2	
R. M.	3	+	-2		-2		-1		-2		3	
H. J.	3	+	-1		3	+	-2		3	+	3	
$\bar{x}$	2		-1,2		1,8		-1,2		1,8		1,8	
x/n		8/10				7/10				7/10		7/10

Tabelle XXXIII Synopsis der wesentlichen Ergebnisse der physikalischen, chemischen und morphologischen Untersuchungen an konservierter Rattenhaut ausgedrückt in Abweichungen von der Norm

	physikalisch Schrumpfungstemp.	Dehnbarkeit	chemisch Eiweißverlust	morphologisch Feinstruktur
RES	~ ⊥ [1]	~ ⊥ [1]	mäßig hoch	Degrad. ab 14. Tag
BPL 10 %	praktisch völlige Auflösung !!!			
BPL 0,1 %	~ ⊥ [1]	~ ⊥ [1]	mäßig hoch	Degrad. ab 7. Tag
FA	erhöht	~ ⊥ [1]	minimal	⊥ [2]
CA	~ ⊥ [1]	~ ⊥ [1]	gering	Degrad. ab 3. Tag
MT	~ ⊥ [1]	~ ⊥ [1]	minimal	Degrad. ab 7. Tag
SA	gering erhöht	herabgesetzt	hoch	⊥ [2]

1) ~ ⊥ : etwa normal bzw. um den Normwert schwankend

2) ⊥ : normal

Abbildung 1 :

a: Vollhautstanzproben für chemische, morphologische und immunologische Untersuchungen sowie für Sterilitätskontrollen

b: Vollhautstanzproben zur orthotopen Transplantation im Rahmen der immunologischen Untersuchungen

c: Vollhautstanzproben für physikalische Untersuchungen

Maßstab 3 : 1

Abbildung 4: Zur Herstellung der in Abb. 1 dargestellten Probekörper (a - Mitte; b - rechts; c - links)

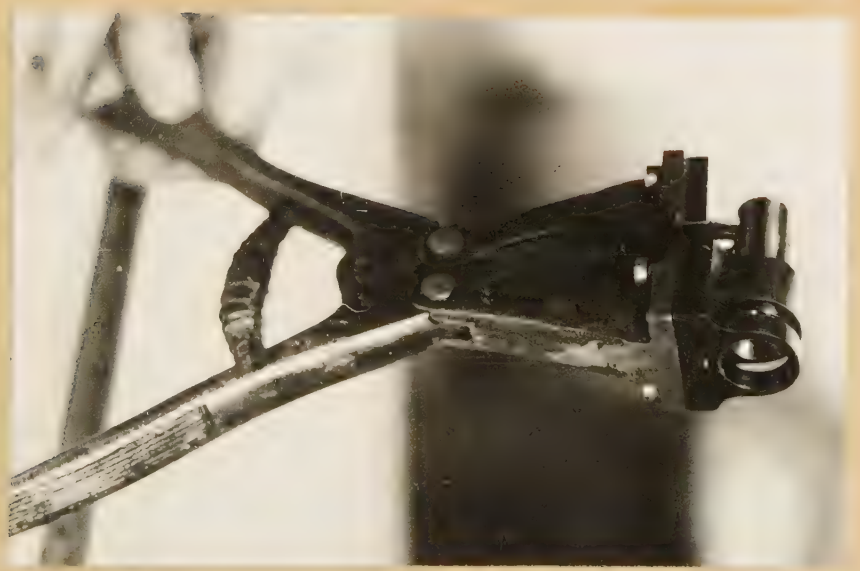


Abbildung 5: Stanzzange zur Schaffung der beiden symmetrischen Wundbette für die orthotope (Zweit-)Transplantation vitaler Haut

Abbildung 4: Zerreißfestigkeit konservierter Rattenhaut

× – PES
○ – BPL
□ – FA
– – – – K
△ – CA
● – MT
■ – GA

Abbildung 5: Delmbarkeit konservierter Rattenhaut

x – PES
o – BPL
□ – FA
– – – K
Δ – CA
● – MT
■ – GA

Abbildung 6: Eiweißverlust konservierter Rattenhaut

×	–	PES	○	–	CA
◑	–	UPL 40%	●	–	MT
○	–	BPL 0,01%	■	–	GA
□	–	FA			

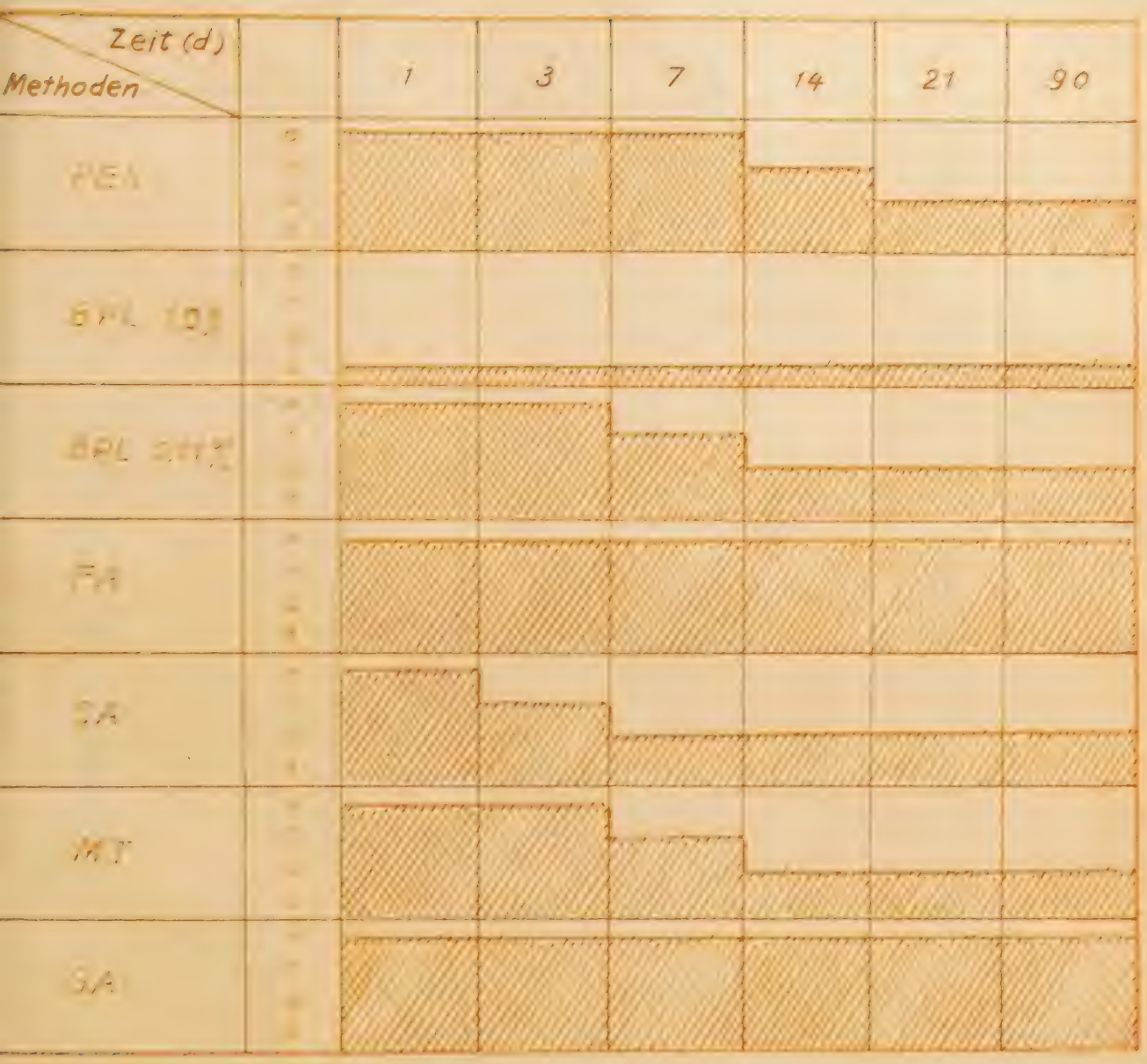


Abbildung 7 : Morphologie konservierter Rattenhaut

0 – normal 2 – stark verändert

1 – gering verändert 3 – völlige Auflösung aller Strukturen

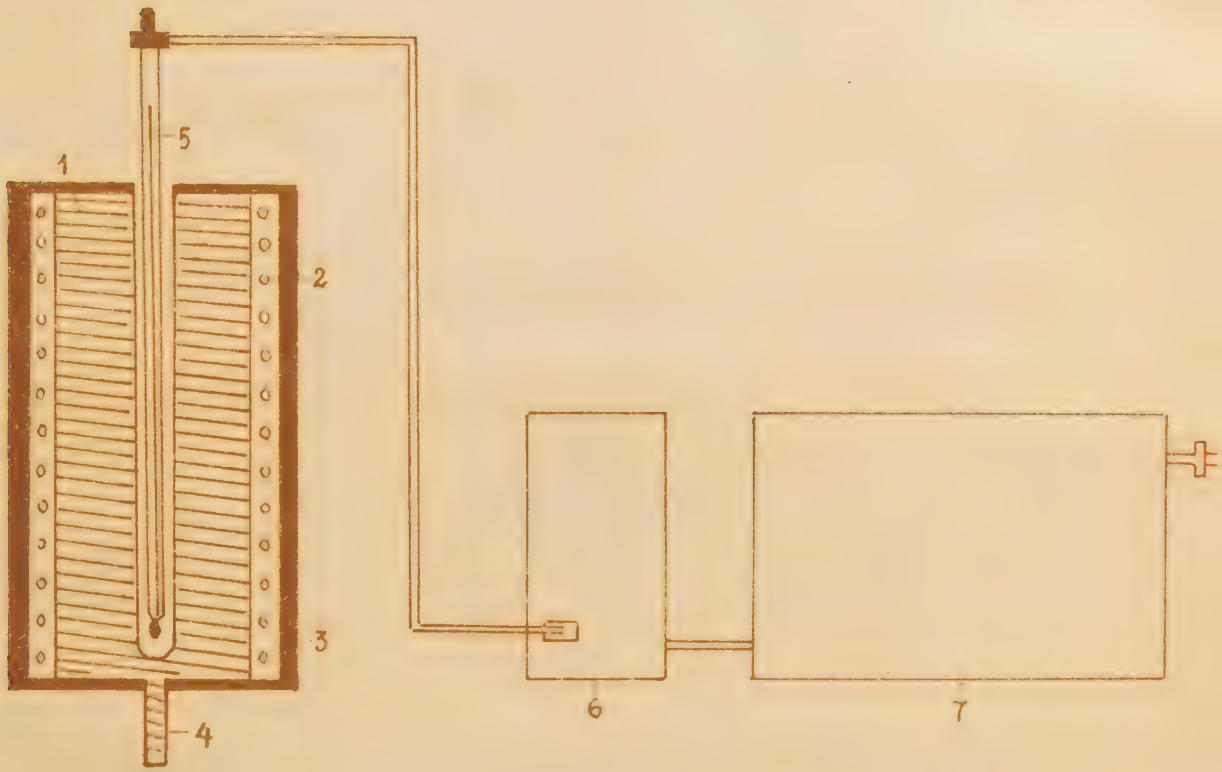


Abbildung 8 Prinzipskizze des von uns benutzten Verbrennungsgerätes

1 = Kupferblock
2 = Cr - Ni - Drahtwicklung
3 = Asbestpappe
4 = Kupferstab
5 = Kontaktthermometer
6 = elektronisches Relais
7 = Regeltrafo

Abbildung 9: Verbrennungsapparat
(1 - 5 der Abb. 8)

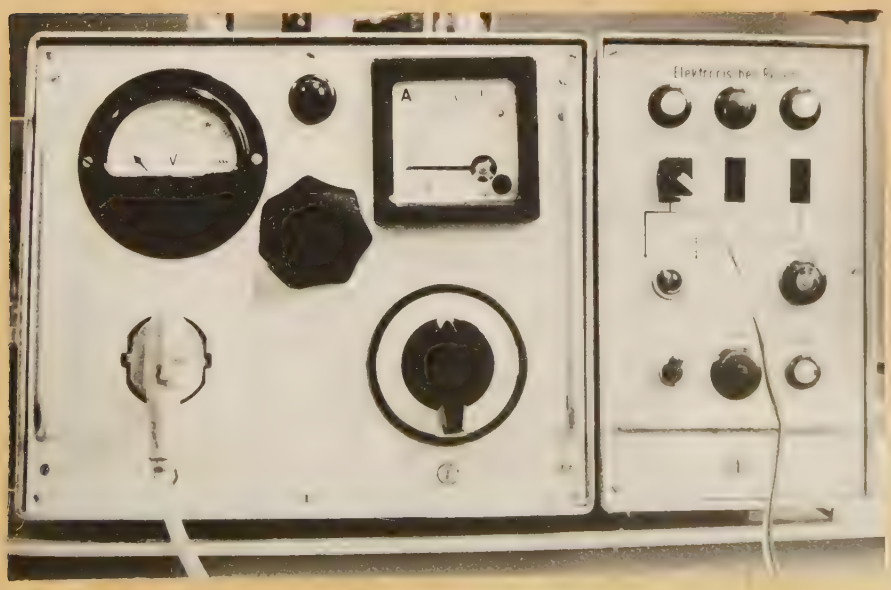


Abbildung 10: Verbrennungsapparat
(6 und 7 der Abb. 8)

Abbildung 11: Maus mit Gipsverband nach Nekrektomie und Hauttransplantation

Abbildung 12: PES-Hauttransplantat, 7 d post transplantationem

Abbildung 13: BPL-Hauttransplantat, 7 d post transplantationem

Abbildung 14: FA-Hauttransplantat, 7 d post transplantationem

Abbildung 15: CA-Hauttransplantat, 7 d post transplantationem

Abbildung 16: MT-Hauttransplantat, 7 d post transplantationem

Abbildung 17: GA-Hauttransplantat, 7 d post transplantationem

Abbildung 18: TTL-Hauttransplantat, 7 d post transplantationem

Abbildung 19: GT-Hauttransplantat, 7 d post transplantationem

Abbildung 20: Frischhauttransplantat, 7 d post transplantationem

Abbildung 21: PES-Gruppe, Nekrektomie-Transplantationsgebiet 18 d post transplantationem

Abbildung 22: BPL-Gruppe, Nekrektomie-Transplantationsgebiet 18 d post transplantationem

Abbildung 23: Fa-Gruppe, Nekrektomie-Transplantationsgebiet 18 d post transplantationem

Abbildung 24: CA-Gruppe, Nekrektomie-Transplantationsgebiet 18 d post transplantationem

Abbildung 25: MT-Gruppe, Nekrektomie-Transplantationsgebiet 18 d post transplantationem

Abbildung 26: GA-Gruppe, Nekrektomie-transplantationsgebiet 18 d post transplantationem

Abbildung 27: TTL-Gruppe, Nekrektomie-Transplantationsgebiet 18 d post transplantationem

Abbildung 28: GT-Gruppe, Nekrektomie-Transplantationsgebiet 18 d post transplantationem

Abbildung 29: Frischhautgruppe, Nekrektomie-Transplantionsgebiet 18 d post transplantationem

Abbildung 30: Kontrollgruppe ohne Transplantation, Nekrektomiegebiet 18 d nach Entfernung der Nekrose

1. In den letzten zwei Jahrzehnten hat die primäre Nekrektomie gefolgt von einer Deckung der Wunde mit vital oder avital konservierter allogener Haut bei der Behandlung ausgedehnter und schwerer Verbrennungen zunehmend an Bedeutung gewonnen. Die im allgemeinen herangezogenen Konservierungsmethoden (Inkubation mit Kryoprotektiva, Einfrieren und Lagerung in flüssigem Stickstoff, Lagerung in Tiefkühltruhen sowie Gefriertrocknung sind alle mit einem relativ hohen organisatorischen und materiellen Aufwand verbunden und außerdem sehr störanfällig. Wir stellten uns daher die Aufgabe, Konservierungsverfahren zu testen, die die Gewinnung und Konservierung von Haut unter Katastrophen- bzw. Verteidigungsbedingungen gestatten.
Dabei konnte es sich nur um solche chemische Konservierungsmethoden handeln, bei denen das konservierende Agens gleichzeitig eine ausreichende keimwidrige Wirkung ausübt.

2. Als Konservierungsmedien wurden Peressigsäure (0,1 % und 1,0 %), Betapropiolakton (zuerst 1,0 %, später 0,01 %), Formaldehyd (4,0 %), Cialit (0,02 %), Merthiosal (0,1 %) und Glutaraldehyd (2,0 %) in wäßriger Lösung geprüft. In einem Teil der Versuche dienten neben Frischhaut auch durch Tieftemperaturlagerung (-20 °C bis -40 °C) und durch Gefriertrocknung konservierte Haut als Kontrollen.

3. Um den Einfluß der Konservierungsmedien auf die Haut im Verlaufe einer Lagerung bei Zimmertemperatur über 1 bis 21 bzw. 90 Tage zu erfassen, wurden bestimmt: Zerreißfestigkeit und Dehnbarkeit (Haut von Histarratten und menschliche Leichenhaut) sowie feingewebliche Veränderungen (HE- und Akridinorange-Präparate) im Sinne einer Degradation (Haut von Histarratten). Die Effektivität der Konservierungslösungen als "Sterilisationsmedien" wurde jeweils am Versuchsende (Rattenhaut nach 90 Tagen, Leichenhaut nach 21 Tagen) und in einer speziellen Serie (wieder Leichenhaut) nach 21 Tagen untersucht. Recherchiert wurde schließlich auf konservierungsbedingte Veränderungen der Immunogenität, wobei 3 Wochen lang in den Konservierungsmedien gelagerte Haut von Histarratten BDIX-Ratten bzw. von A-Mäusen B10LP-Mäusen in subkutane Hauttaschen implantiert, nach 3 Wochen vitale Haut vom jeweils gleichen Spenderstamm in einen operativ gesetzten Hautdefekt transplantiert (second-set) und die Rejektionszeit für dieses Zweitplantat bestimmt wurde; zwei Wochen nach dem second-set wurden die Tiere getötet und die regionären (axillären) und nicht-regionären (inguinalen) Lymphknoten freipräpariert und gewogen; bei den Mäusen wurde zusätzlich 11 bis 12 Tage nach der Zweittransplantation Serum gewonnen und auf das Vorliegen von lymphozytotoxischen Antikörpern gefahndet.

4. Zur Feststellung der Eignung chemisch konservierter Haut im Sinne der Zielstellung wurde 1. konservierte Haut von B17-Mäusen zur Deckung von umschriebenen thermischen Schädigungen 3.Grades (bzw. Nekrektomiewunden nach solchen) bei B10.A-Mäusen herangezogen und auf ihre Wirksamkeit als "biologischer Wundverband bei schweren Verbrennungen im Experiment getestet und 2. entsprechend präparierte menschliche Haut im Rahmen der Behandlung von Ulcera cruris eingesetzt und auf ihre Verträglichkeit bei der Transplantation am Menschen klinisch geprüft.

5. Unter dem Einfluß von Betapropiolakton-1,0% und -0,1% kommt es zu einer völligen Destruktion der Haut, so daß das Mittel in diesen Konzentrationen für die Konservierung ungeeignet ist. Bei Formaldehyd war eine Erhöhung der Zerreißfestigkeit, bei Glutaraldehyd ein deutlicher Eiweißverlust bei Erhaltung der anderen typischen Eigenschaften, insbesondere des feingeweblichen Bildes, festzustellen. Alle anderen Konservierungsmedien - Peressigsäure-0,1%, Betapropiolakton-0,01%, Cialit und Merthiosal - führten neben physikalisch und/oder chemisch erfaßbaren Veränderungen zu einer morphologischen Degradation. Unter Berücksichtigung der geringen Relevanz der dabei beobachteten Alterationen hielten wir es für berechtigt, auch diese Mittel in die weiteren Untersuchungen und Überlegungen einzubeziehen.

6. Peressigsäure-1,0% und -0,1%, Betaropropiolakton-0,01% und vor allem Formaldehyd und Glutaraldehyd sind ausreichend keimwidrig, so daß sie - unter der Voraussetzung einer strengen Prüfung der mit ihrer Hilfe hergestellten Präparate auf Keimfreiheit nach DAB 7 - zur Konservierung und gleichzeitigen "Sterilisation" eingesetzt werden können. Cialit und Merthiosal werden nach unseren Erfahrungen den hohen Anforderungen, wie sie die Notwendigkeit der "Sterilisation" und Keimfreihaltung bei Gewinnung der Haut unter nicht-aseptischen Bedingungen stellt, nicht gerecht.

7. Alle Konservierungsmedien führen zu einer wesentlichen Herabsetzung der Immunogenität der Haut, was wohl in erster Linie damit zu erklären ist, daß jede avitale Konservierung grundsätzlich mit einem Verlust der Histokompatibilitäts-Antigenität einhergeht.

8. Die Transplantation konservierter Haut wirkt sich - unabhängig vom Konservierungsverfahren - bei der Behandlung von Verbrennungen günstig aus: Sie erhöhte in unseren Versuchen die Überlebenschancen der thermisch geschädigten Tiere und verkürzte die Wundheilungszeit. Dieser Effekt war besonders eindrucksvoll in der Glutaraldehydgruppe.

9. Keines der Medien induziert im Rahmen der Behandlung von Ulcera cruris Reizerscheinungen. Haut, die mit Peressigsäure, Formaldehyd, Merthiosal oder Glutaraldehyd konserviert worden war, hatte in 70 bis 80 % einen positiven Einfluß auf die Geschwüre.
Bei 2 von insgesamt 12 Patienten kam es 14 bis 16 Tage nach Wundabdeckung mit den konservierten Hautproben zur Wundheilung (Reepithelisierung), obwohl sich die Ulcera über 1,5 bzw. 3 Jahre als therapieresistent gezeigt hatten.

10. Eine Konservierung von Haut durch Einlegen in keimwidrige Medien und Lagerung solcher Präparate bei Zimmertemperatur über 21 bis 90 Tage ist grundsätzlich möglich und sinnvoll.
So konservierte Haut hat sich uns bei der Behandlung schwerer Verbrennungen im Tierexperiment bewährt.
Darüber hinaus konnte gezeigt werden, daß auch der Einsatz chemisch konservierter Haut zur Behandlung therapieresistenter Ulcera cruris erfolgversprechend ist.
Als Konservierungsmedien sind 0,1%ige Peressigsäure,

4,0%iges Formaldehyd und 2,0%iges Glutaraldehyd
geeignet;
besonders empfohlen wird Glutaraldehyd.